ISSN[e] 2244-8888

Pittieria

La Revista del Departamento de Botánica y Ciencias Básicas

Facultad de Ciencias Forestales y Ambientales. Universidad de Los Andes

42
ENERO-DICIEMBRE
2018 Año XLVI
Nueva Serie



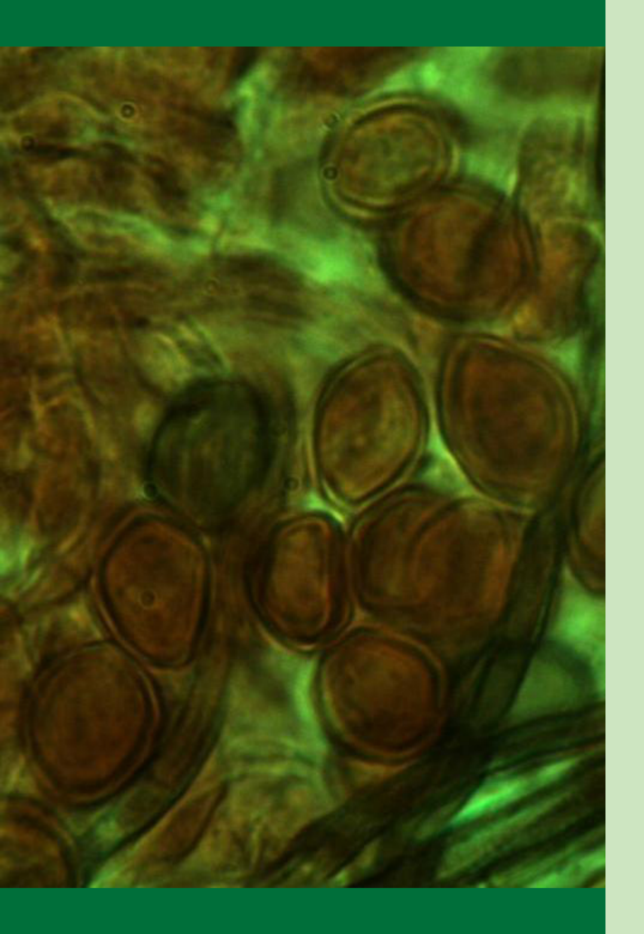
UNIVERSIDAD DE LOS ANDES
VENEZUELA

ISSN[e] 2244-8888

Pittieria

42

ENERO-DICIEMBRE
2018 Año XLVI
Nueva Serie



REVISTA DEL DEPARTAMENTO DE BOTÁNICA Y CIENCIAS BÁSICAS DE LA FACULTAD DE CIENCIAS FORESTALES Y AMBIENTALES DE LA UNIVERSIDAD DE LOS ANDES (MÉRIDA, VENEZUELA), FUE CREADA CON EL FIN DE DIVULGAR LAS INVESTIGACIONES DE LOS MIEMBROS DE LA INSTITUCIÓN Y ABIERTA A CONTRIBUCIONES DE INVESTIGADORES EXTERNOS. PUBLICA ARTÍCULOS CIENTÍFICOS Y NOTAS TÉCNICAS DE TODOS LOS CAMPOS DE LA BOTÁNICA; HACIENDO ÉNFASIS EN INVESTIGACIONES REALIZADAS EN VENEZUELA. ES UNA PUBLICACIÓN ANUAL EDITADA EN FORMATO IMPRESO Y DIGITAL; EN ESTE ÚLTIMO CASO ES DE ACCESO LIBRE A TRAVÉS:

http://www.saber.ula.ve/pittieria/
http://erevistas.saber.ula.ve/index.php/pittieria/

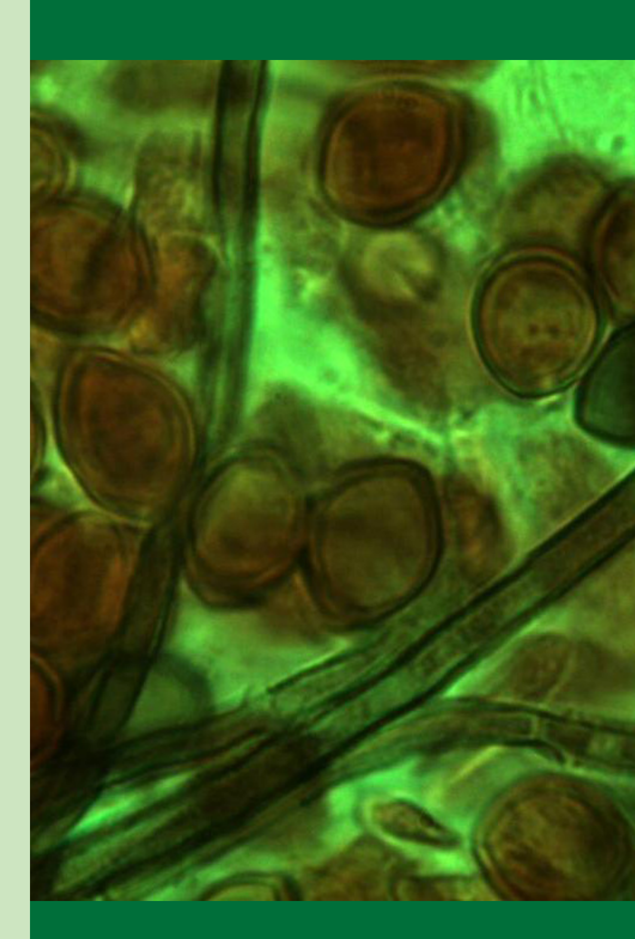
REVENCYT RVP001. LATINDEX.
Periódica (UNAM, México)

El intercambio es bienvenido
Exchange is accepted
Der Austausch ist willkommen
Les échanges sont bienvenus

ISSN 0554-2111 (impreso)
ISSN 2244-8888 (electrónico)
Depósito Legal pp 196702ME558

Este número ha sido publicado gracias al apoyo de la Universidad de Los Andes, Mérida, Venezuela.





DIRECCIÓN
Departamento de Botánica y Ciencias Básicas
Facultad de Ciencias Forestales y Ambientales
Conjunto Forestal, Edificio Principal.
Universidad de Los Andes.
Avenida Principal Chorros de Milla
Mérida 5101, Venezuela.
Tel.: +58 274 2401526
pittieria@ula.ve

Pittieria

ISSN[e] 2244-8888
42
ENERO-DICIEMBRE
2018 Año XLVI
Nueva Serie

Contenido

Notas Técnicas

Editorial

CLASIFICACIONES INTUITIVAS Y PRAGMÁTICAS

por
CARMEN E.
BENÍTEZ DE ROJAS

Para el estudio de un espécimen biológico o de un grupo de especímenes en cualquier jerarquía taxonómica, es necesaria la familiarización de dicho grupo con otros taxones relacionados principalmente a nivel de clase, orden, familia, tribu y por supuesto, a niveles de género y especie.

Muchos han sido los adelantos alcanzados durante los últimos 250 años de evaluaciones, a partir de las cuales se han obtenido infinidad de datos acerca de características florales, seminales, aspectos relacionados con estudios fitogeográficos, carpológicos, palinológicos, citológicos, embriológicos, información derivada de ensayos de naturaleza cromosómica, fitoquímica y anatómica. Todos estos hallazgos en conjunto, permiten organizar la información disponible y compilarla en un sistema con el que se pueden clasificar los diferentes grupos de organismos en sus respectivos taxa, mediante la construcción de claves taxonómicas diseñadas adecuadamente.

Podemos decir que existen caminos para construir una clasificación más predictiva, por ejemplo, aquella en la cual el ordenamiento de las especies se realiza sobre la base de sus propiedades medicinales, su hábito de crecimiento, sus características morfoanatómicas, su hábitat o lo que es lo mismo de su clasificación ecológica.

En el periodo actual se estudian las clasificaciones basadas en la filogenia, es decir, que se arreglan los organismos en grupos sobre la base de sus interrelaciones evolutivas, con el fin de determinar cuánto se ha separado la descendencia de un grupo determinado de su población ancestral. Sabemos que estos eventos evolutivos han ocurrido, lo que se ha evidenciado cuando los miembros de dos poblaciones nuevas adquieren mediante procesos de mutación y especiación, nuevas características entre sus genes y los reflejan como posibles cambios fenotípicos. Estos últimos procesos permiten que los miembros de una población sean más diferentes a los miembros de la población ancestral de la cual derivan. Dichas características representan evidencias de la evolución, las cuales obligatoriamente hay que valorar para tener una clasificación consistente con los avances científicos y tecnológicos disponibles actualmente.



ISSN[e] 2244-8888

Especulaciones filogenéticas han permitido establecer eventos evolutivos a nivel específico originando cambios en la ubicación de reinos, especies en familias, éstas en géneros o éstos ubicados como subfamilias dentro de una determinada familia; todo lo cual deriva en cambios nomenclaturales y en las secuencias de subfamilias y taxones subordinados, incrementando así su complejidad.

La metodología básica de la sistemática moderna ha adquirido información de organismos y sus interrelaciones con el ambiente para resolver aproximaciones acerca de su clasificación, filogenia y evolución. Algunos investigadores en este campo indican que el registro de información y análisis de datos deberán dar señales o pistas para una clasificación que derive en un conocimiento más profundo de la filogenia y evolución de los organismos. Por otra parte, el empleo de las nuevas tecnologías tales como la secuenciación de los ácidos nucleicos, se presenta como una herramienta valiosa que permite afinar mucho más la calidad de los resultados obtenidos y la posterior ubicación de los taxones en las diferentes ramas evolutivas al cual corresponden verdaderamente, de esta forma tendremos un método de clasificación basado en consideraciones no sólo intuitivas, sino también pragmáticas.

"Para proteger, enriquecer la vida y conocer nuestro hábitat, debemos descubrir e interesarnos por el conocimiento de las especies y del medio ambiente donde ellas viven".

ISSN(e) 2244-8888

Pittieria
42
ENERO-DICIEMBRE 2018
págs. 8-21

Aspectos ecoanatómicos de ocho especies de *Pentacalia* Cass. (Asteraceae) de los Andes venezolanos

Ecoanatomical aspects of eight species of *Pentacalia* Cass. (Asteraceae) in venezuelan Andes

por

WILLIAMS J. LEÓN H.[1] y LUIS E. GÁMEZ A.[2]

1 Universidad de Los Andes. Facultad de Ciencias Forestales y Ambientales. Laboratorio de Anatomía de Maderas. Mérida, Venezuela. **wleon@ula.ve**

2 Universidad de Los Andes. Facultad de Ciencias Forestales y Ambientales. Laboratorio de Dendrología. Mérida, Venezuela. **lgamez@ula.ve**

RECIBIDO: mayo 15 de 2018 / **ACEPTADO:** agosto 06 de 2018

RESUMEN

Pentacalia Cass. es el género de la familia Asteraceae con mayor número de especies en Venezuela y un número considerable de las mismas son endémicas. Tiene una alta representatividad en los páramos andinos venezolanos pero a pesar de ello, son pocos los estudios que se han realizado sobre dicho género, especialmente en lo relacionado entre aspectos anatómicos de la madera y el medio donde crecen. El presente trabajo es un estudio de las características de elementos xilemáticos de conducción en ocho especies de *Pentacalia* Cass., recolectadas en las montañas altas de los estados Mérida y Táchira (Venezuela), con el fin de conocer el comportamiento (mesomórfico o xeromórfico) de dichas especies en áreas de páramo y selva nublada. Las muestras fueron preparadas utilizando procedimientos estándar de microtecnia xilemática y se determinaron características cualitativas (porosidad, agrupación y disposición de vasos, tipo de placa de perforación, tipo de punteaduras, engrosamientos espiralados) y cuantitativas (frecuencia y diámetro de vasos, longitud de elementos de los vasos, diámetro de punteaduras) de los vasos de acuerdo a lo establecido por IAWA Committee. Se calcularon los índices de vulnerabilidad y mesomorfía para determinar el tipo de comportamiento de las especies en el área de estudio. Algunos caracteres importantes son la presencia de poros numerosos, pequeños, elementos de los vasos cortos y la presencia de engrosamientos espiralados en todas las especies excepto en *P. reflexa*. Desde el punto de vista ecoanatómico, los índices de vulnerabilidad y mesomorfía indican que para las especies de páramo existe un comportamiento xeromórfico, con elementos de conducción que se orientan a garantizar la seguridad en el movimiento de líquidos. *P. reflexa*, única especie colectada en selva nublada, mostró un comportamiento mesomórfico.

PALABRAS CLAVE: Ecoanatomía, engrosamientos espiralados, seguridad de conducción, xeromorfismo, xilema secundario.

ABSTRACT

Pentacalia Cass. is the genus from Asteraceae with more quantity of species in Venezuela and many species are endemic. This genus have a high importance in paramos from venezuelan Andes but are few studies about this genus in Venezuela, specially in relation to wood anatomy and site conditions. This paper is a research about features of xylem conductive elements in eight species of *Pentacalia* Cass. collected in high mountains of Mérida and Táchira states (Venezuela) is presented; with the aim of study ecoanatomical aspects like mesomorphic of xeromorphic type in species collected in zones of paramo and cloudy forest. Samples were prepare using standars procedures of xylem microtechnique and description was made for qualitative (porosity, vessels grouping, vessels arrangement, perforations plates, intervessels pits) and quantitative (frequency and diameter, length element vessels, pits diameter) vessels features according IAWA Committe. Vulnerability and mesomorphic indexes are calculated. Some importants features observed in species studied are: high number of vessels, narrow vessels in diameter, short vessel elements and spiral thickenings in all species studied except in *P. reflexa*. From an ecoanatomical point of view, vulnerabilty and mesomorphy index shows a xeromorphic type for species of *Pentacalia* collected in paramo, with conductive elements oriented to safety in conduction of water and mineral salts. *P. reflexa*, only specie collected in cloudy forest, shows a mesomorphic type.

KEY WORDS: Ecoanatomy, securiy in conduction, secondary xylem, spirals thickening xeromorphic type.

INTRODUCCIÓN

Las condiciones del medio natural donde crecen las plantas ejercen una influencia importante sobre el proceso de crecimiento y desarrollo de éstas (Wieser & Tausz 2007). En las especies vegetales leñosas, el sistema de conducción presenta características que tratan de aprovechar al máximo lo que el medio ofrece en cuanto a la cantidad de humedad disponible (Oskolski & Jansen 2009). Por su parte, los estudios ecoanatómicos xilemáticos tienen como objetivo conocer cómo influyen las condiciones del medio natural sobre la estructura del xilema secundario en, principalmente, especies del grupo de las angiospermas (León 2016). En este sentido, el estudio de los rasgos funcionales es de gran importancia ya que permite explicar la respuesta de las especies vegetales a gradientes y/o cambios ambientales (Salgado & Paz 2016) y uno de los objetivos de la ecología funcional es entender cómo los rasgos funcionales varían entre y dentro de especies. Entre los rasgos claves, por su importancia en el comportamiento de las plantas, se encuentran algunos propios de la madera, que permiten conocer las características de los elementos celulares encargados de la movilización del agua y las sales minerales, es decir los caracteres cualitativos y especialmente los cuantitativos correspondientes a los vasos y elementos complementarios de conducción que se pueden presentar en algunas angiospermas como lo son las traqueidas (vasicéntricas o vasculares). Carlquist (2001) manifiesta que el nivel genérico es el comúnmente utilizado para la realización de estudios de ecoanatomía xilemática e indica que los caracteres de mayor interés son el diámetro y frecuencia de vasos, longitud de elementos de los vasos y el número de barras de la placa de perforación en caso que sean de tipo escalariforme, siendo algunos de estos caracteres esenciales para determinar los índices de vulnerabilidad y mesomorfía propuestos por Carlquist (1977).

El género *Pentacalia* Cass. (Senecioneae, Asteraceae) está constituido por unas 217 especies distribuidas principalmente en Sudamérica, especialmente al Norte del continente (Sagástegui & Rodríguez 2009). Según Badillo *et al.* (2008) es el género de Asteraceae con mayor cantidad de especies en Venezuela, con un total de 49, de las cuales 20 son endémicas (Briceño & Morillo 2002, Badillo *et al.* 2008, Lapp *et al.* 2013b, Lapp 2014). Este género abarca especies sufrútices, arbustos, arbustivas escandentes y trepadoras, propias de selvas nubladas (raras en selvas semideciduas) y de los páramos, siendo su distribución principal en la zona andina (Lapp *et al.* 2013a). Las dos áreas de distribución de *Pentacalia* (páramo y selva nublada andina) presentan características contrastantes. Con respecto a los páramos, Llambi & Soto (2012) señalan que en Venezuela se encuentran en la Cordillera de Mérida y en la Sierra de Perijá, en los estados de Táchira, Mérida, Trujillo, Barinas, Apure y Zulia ocupando aproximadamente 239.854 ha; se presentan en climas de alta montaña tropical, con temperaturas diarias muy variables, es decir, tienen una gran amplitud térmica: frío congelante durante la noche y calor de más de 25 °C durante el día. Las plantas del páramo poseen adaptaciones para soportar las bajas temperaturas nocturnas, la alta radiación solar durante el día, la baja disponibilidad de nutrientes en el suelo y en algunos casos, condiciones de sequía estacional. Con respecto a la selva nublada andina, bosque húmedo montano de acuerdo al sistema de clasificación de Holdridge, Veillon (1994) indica que en Venezuela se ubica en las

partes altas de la sierra de Perijá (estado Zulia) y, principalmente en la cordillera de Los Andes (estados Mérida, Táchira y Trujillo). Huber (2008) señala que en el área correspondiente a la cordillera de Los Andes, específicamente en la región de La Carbonera (estado Mérida) se presentan grandes colonias de pino aparrado (*Podocarpus oleifolius*) y pino laso (*Retrophyllum rospigliosii*). Guevara (2007) indica que el clima de la zona sigue un régimen biestacional, con una estación seca (diciembre-marzo) y una estación lluviosa (marzo-noviembre), pudiéndose considerar a enero el único mes seco, siendo la precipitación media anual de 1.500 mm, aumentando hacia la cima del pico El Tambor donde se registran hasta 1.800 mm. De acuerdo a la clasificación de Holdridge (1987), la vegetación corresponde a zona de vida bosque muy húmedo montano y en parte bosque pluvial montano; mientras que para Pittier (1937) es un típico bosque nublado andino. Sarmiento *et al.* (1971) la clasifican como selva nublada montano alta (2.250-2.550 msnm), perennifolia, mixta, alta y de dosel irregular.

En Venezuela, el género *Pentacalia* ha sido estudiado en aspectos de sistemática (Lapp 2014) y morfoanatomía (Lapp *et al.* 2013b; Jáuregui *et al.* 2016; León & Gámez 2018). En relación a su ecoanatomía se tiene muy poca información para el género en el país y uno de los pocos aportes es el presentado por Jáuregui *et al.* (2016). Tomando en consideración que Asteraceae es una de las familias con mayor cantidad de especies en Venezuela y *Pentacalia* es el género de dicha familia con mayor representatividad en cuanto a número de especies en las altas montañas de Venezuela (Badillo *et al.* 2008); son de gran relevancia los aportes que se hagan sobre la misma. La presente investigación tiene como objetivo estudiar las características de los elementos xilemáticos de conducción y el tipo de comportamiento (xeromórfico o mesomórfico) de ocho especies del género *Pentacalia* en sus principales áreas de distribución en Venezuela, como lo son el páramo y selva nublada andina.

METODOLOGÍA

El material de estudio está representado por muestras de madera de ocho especies de *Pentacalia* recolectadas en los estados Mérida y Táchira (Venezuela), siete en el ecosistema páramo y una en la selva nublada andina, esta ultima especie se usó con el fin de realizar comparaciones y determinar si existen diferencias estructurales entre las especies que habitan en ambos ecosistemas donde las condiciones son marcadamente distintas ***(CUADRO 1)***. Por cada especie se colectó material de entre 1 y 3 individuos dependiendo de su abundancia en la zona de colección y las muestras se tomaron en la base del tallo. Cada muestra de leño fue accesada a la colección permanente de la Xiloteca MERw (Laboratorio de Anatomía de Maderas, Universidad de Los Andes) y su respectiva muestra botánica fue incorporada al Herbario MER “Carlos Liscano” de la Universidad de Los Andes. De cada porción de madera se extrajeron piezas de aproximadamente 1,5 cm^3, las cuales fueron sometidas a un proceso de ablandamiento en agua hirviendo durante 2-3 h, para ser llevadas a un micrótomo de deslizamiento y así obtener las secciones transversales, radiales y tangenciales de 22-25 µm de espesor. Posteriormente, se realizó el proceso de tinción sumergiendo las secciones en una solución de safranina durante 2-3 h para someterlas a un proceso de deshidratación en

CUADRO 1. Lista de especies estudiadas, muestra de xiloteca, herbario y procedencia.

ESPECIE	MUESTRA DE MADERA (XILOTECA MERW) Y BOTÁNICA (HERBARIO MER)	LUGAR DE COLECCIÓN, COORDENADAS Y ALTITUD
P. cachacoensis (Cuatrec.) Cuatrec.	X7052; 3291 Gámez	X7052: Páramo El Rosal (Táchira); 8° 00´ N, 71°34´ E; 3176 msnm
P. greenmaniana (Hieron.) Cuatrec.	X7037; 1671 Gámez X7038; 1989 Gámez	X7037: Laguna La Fría (Mérida), coordenadas: 8°19´ N, 71°03´ E; 3566 msnm; X7038: Páramo San José (Mérida), 8°11´ N, 65°10´ E; 3100 msnm.
P. imbricatifolia (Sch. Bip. ex Wedd.) Cuatrec.	X7040; 1899 Gámez X7041; 2017 Gámez	X7040: páramo Piedras Blancas (Mérida); 8°32´ N, 70°30´ E; 4086 msnm X7041: páramo Piedras Blancas (Mérida); 8°31´ N, 64°31´ E; 4302 msnm
P. mason-halei (Ruiz Teran & López-Fig.) Cuatrec.	X7042; 1670 Gámez	X7042: Laguna La Fría (Mérida); 8°19´ N, 71°03´ E; 3566 msnm
P. pachypus (Greenm.) Cuatrec.	X7043; 1990 Gámez X7044; 2160 Gámez X7045; 2206 Gámez	X7043: Páramo San José (Mérida), 8°11´ N, 71°10´ E; 3108 msnm; X7044: Páramo Quirorá (Mérida), 8°11´ N, 71°15´ E; 3118 msnm; X7045: Sendero Laguna La Fría (Mérida), 8°19´, 71°03´ E; 3485 msnm
P. quirorana (Cuatrec.) Cuatrec.	X7046; 2195 Gámez X7047; 2197 Gámez	X7046, X7047: Páramo Quirorá (Mérida); 8°11´ N, 71°15´ E; 3111 msnm
P. reflexa (Kunth) Cuatrec.	X7048; 1900 Gámez	X7048: Bosque San Eusebio (Mérida), 8°22´ N, 77°13´ E; 2468 msnm
P. venezuelensis (Sanwith) Cuatrec.	X7049; 1926 Gámez X7050; 1985 Gámez	X7049: Páramo San José (Mérida), 8°11´ N; 71°10´ E; 3108 msnm; X7050: Sendero Laguna La Fría (Mérida), 8°19´ N, 77°03´ E; 3485 msnm

baños sucesivos de alcohol (50 %, 15 min; 70 %, 15 min; 75 %, 15 min; 95 %; 2 h), una mezcla alcohol-xilol (1:1; 40 min) y xilol (2 h). Finalmente se procedió a hacer el respectivo montaje y rotulado. Se tomaron en consideración los rasgos funcionales de tipo hidráulico-biomecánico del tallo propuestos por Salgado *et al.* (2016) y la descripción de los mismos se realizó siguiendo las pautas indicados por la International Association of Wood Anatomists (IAWA Committee 1989). Para la determinación de la longitud de elementos de los vasos se preparó tejido macerado sumergiendo astillas de madera en una solución de ácido acético-peróxido de hidrógeno (1:1) y llevadas a estufa (50 °C, 12 h) para luego proceder a la individualización de elementos celulares aplicando fricción mecánica, tinción con safranina y el respectivo montaje. Para las características cuantitativas (frecuencia y diámetro de vasos, diámetro de punteaduras, longitud de elementos de los vasos) se realizó el número de mediciones indicadas por IAWA Committee (1989), se determinó la estadística básica (promedio, desviación, máximo, mínimo, coeficiente de variación) y se realizó el respectivo análisis de varianza y prueba de diferencia de medias (Tukey, α = 0,01). Además, se utilizó la medida de disimilaridad mediante el índice de Bray-Curtis utilizando el programa PRIMER 6, el cual permitió la ordenación de las especies por escalamiento multidimensional no métrico, pudiendo ordenar los taxones analizados y las variables de forma continua a lo largo de ejes de variación (gradientes) y visualizar sus relaciones de similaridad representado a través de un diagrama la matriz de disimilaridad.

Para determinar el tipo de comportamiento de las especies se calcularon los índices de vul-

CUADRO 2. Características cualitativas de los vasos para especies de *Pentacalia* Cass.: Porosidad (Po), Disposición (Disp.), Agrupación (Agr.), Placas de perforación (Ppf), Punteaduras intervasculares (Ptiv), Punteaduras radiovasculares (Prv), Engrosamientos espiralados (Esp)

ESPECIE	PO	DISP.	AGR.	PPF.	PTIV	PRV	ESP
P. cachacoensis	Difusa	Sin patrón definido	solitarios (pocos), múltiples radiales de 2-6 (-11)	Simples	Alternas, circulares a ovaladas	Similares a Ptiv	Presentes
P. greenmaniana	Difusa	Sin patrón definido	solitarios (pocos), múltiples radiales de 2-12 (-23)	Simples	Alternas, circulares a ovaladas	Similares a Ptiv	Presentes
P. imbricatifolia	Difusa; ocasionalmente tendencia semicircular	Sin patrón definido	solitarios (pocos), múltiples radiales de 2-4 (-6)	Simples	Alternas, circulares a ovaladas	Similares a Ptiv	Presentes
P. mason-halei	Difusa	Sin patrón definido	solitarios (pocos), múltiples radiales de 2-10	Simples	Alternas, circulares a ovaladas	Similares a Ptiv	Presentes
P. pachypus	Difusa	Sin patrón definido	solitarios (pocos), múltiples radiales de 2-4 (-20)	Simples	Alternas, circulares a ovaladas	Similares a Ptiv	Presentes
P. quirorana	Difusa	Sin patrón definido	solitarios (pocos), múltiples radiales de 2-4 (-6)	Simples	Alternas, circulares a ovaladas	Similares a Ptiv	Presentes
P. reflexa	Difusa	Sin patrón definido	solitarios (pocos), múltiples radiales de 2-4 (-6)	Simples	Alternas, circulares a ovaladas	Similares a Ptiv	Ausentes
P. venezuelensis	Difusa	Sin patrón definido	solitarios (pocos), múltiples radiales de 2-4 (-20)	Simples	Alternas, circulares a ovaladas	Similares a Ptiv	Presentes

nerabilidad (IV) y mesomorfía (IM) propuestos por Carlquist (1977):

IV = Diámetro de vasos/Frecuencia de vasos.

IM = IV x Longitud de elementos de los vasos.

Los valores de dichos índices son indicativos de si existe un comportamiento xeromórfico (IV < 1; IM < 75) o mesomórfico (IV > 1; IM > 200).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las especies analizadas mostraron similitudes en los caracteres cualitativos de los vasos, particularmente todas las que se recolectaron en el ecosistema páramo, las cuales se diferencian de *P. reflexa,* especie recolectada en la selva nublada, la cual no presenta engrosamientos espiralados, contrastando con la presencia de los mismos en el resto de las especies estudiadas ***(FIGURA 2)***. Según Carlquist (2001), este tipo de estructura se puede presentar en lugares donde la planta pueda ser sometida a estrés hídrico, bien sea por fuertes sequías o zonas donde predominan temperaturas muy bajas. Estas condiciones pueden generar altas tensiones en los vasos e inducir a embolismos y la presencia de engrosamientos espiralados puede reducir la susceptibilidad a embolismo o, en caso que se produzca, que el elemento conductor pueda retomar su función. En el caso de *P. reflexa*, el material de estudio fue recolectado en la región del bosque San Eusebio (selva nublada), lugar donde las condiciones no son tan severas como las encontradas en los otros sitios de colección.

A nivel de características cuantitativas ***(CUADRO 3)*** se encontró que, en general, los vasos son de tamaño reducido ***(FIGURAS 1, 3)***, de alta frecuencia ***(FIGURAS 1, 4)***, con punteaduras diminutas a



FIGURA 1.
Frecuencia y diámetro de vasos en:
(A) *P. cachacoensis*,
(B) *P. greenmaniana*,
(C) *P. imbricatifolia*,
(D) *P. mason-halei*,
(E) *P. pachypus*,
(F) *P. quirorana*,
(G) *P. reflexa* y
(H) *P. venezuelensis*
(Barra = 300 µm).

FIGURA 2.
Engrosamientos espiralados en:
(A) *P. greenmaniana*,
(B) *P. imbricatifolia*,
(C) *P. pachypus* y
(D) *P. venezuelensis*
(Barra = 50 µm).

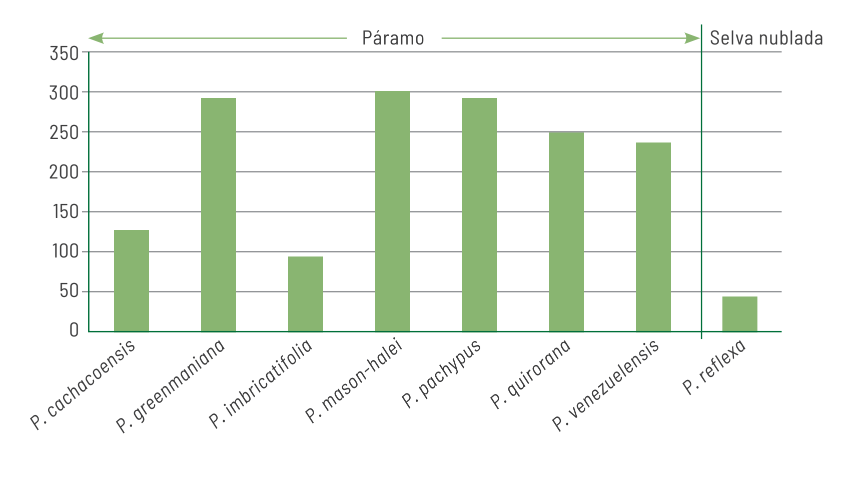


FIGURA 3.
Frecuencia de vasos (vasos/mm^2) para ocho especies de *Pentacalia* en páramos y selva nublada andina de Venezuela.

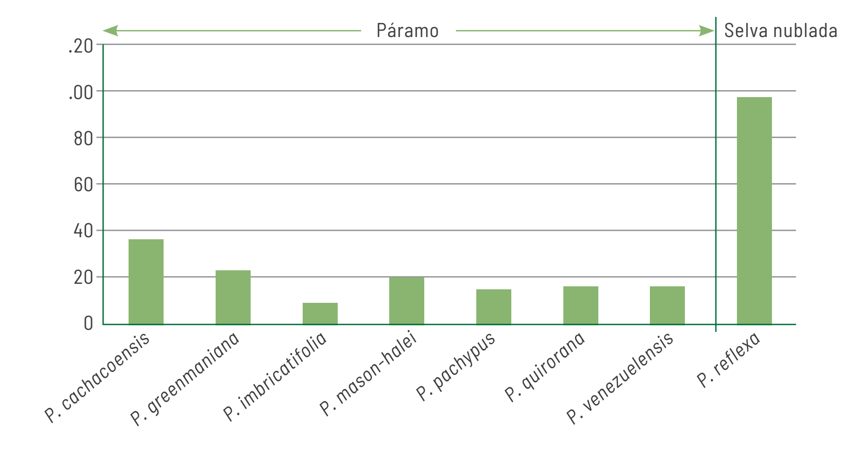
CUADRO 3. Características cuantitativas de vasos: frecuencia (vasos/mm^2), diámetro de vasos y punteaduras, longitud de elementos de los vasos (mínimo, promedio, desviación, máximo, número de mediciones, coeficiente de variación, prueba de Tukey).

ESPECIE	VASOS/mm^2	DIÁMETRO VASOS (µm)	DIÁM. PUNTEADURAS (µm)	LEV (µm)
Pentacalia cachacoensis	(96) 142,09^{a,b,c} ± 41,71 (182) n = 5; CV = 29,35 %	(35) 44,8^{e} ± 6,99 (65) n = 25; CV = 15,6 %	(3,75) 5,125^{b} ± 0,709 (6,25) n = 10; CV = 13,83 %	(125) 213,4^{b} ± 31,35 (260) n = 25; CV = 14,69 %
P. greenmaniana	(201) 309,96^{c,d} ± 90,58 (445) n = 10; CV = 29,22 %	(25) 30,4^{d} ± 3,76 (35) n = 50; CV = 12,37 %	(5) 5,288^{b} ± 0,548 (6,25) n = 13; CV = 10,36 %	(150) 319,2^{d} ± 79,82 (470) n = 50; CV = 25,01 %
P. imbricatifolia	(74) 110,18^{a,b} ± 33,62 (157) n = 10; CV = 30,51 %	(10) 16,8^{a} ± 2,81 (25) n = 50; CV = 16,73 %	- - -	(110) 159,3^{a} ± 26,48 (245) n = 50; CV = 16,62 %
P. mason-halei	(218) 318,45^{d} ± 66,34 (404) n = 5; CV = 20,83 %	(20) 27,2^{c,d} ± 4,1 (35) n = 25; CV = 15,07 %	(2,5) 3,75^{a} ± 0,668 (5) n = 8; CV = 17,81 %	(235) 312^{d} ± 42,91 (385) n = 25; CV = 13,75 %
P. pachypus	(168) 312,09^{c,d} ± 110,25 (582) n = 10; CV = 35,33 %	(15) 22,2^{b} ± 4,1 (30) n = 100; CV = 18,47 %	(2,5) 3,819^{a} ± 0,417 (5) n = 36; CV = 10,92 %	(165) 244,12^{b,c} ± 44,98 (360) n = 85; CV = 18,42 %
P. quirorana	(184) 270,35^{b,c,d} ± 62,69 (380) n = 20; CV = 23,19 %	(15) 23,4^{b,c} ± 4,45 (35) n = 50; CV = 19,02 %	(2,5) 3,562^{a} ± 0,734 (5) n = 20; CV = 20,61 %	(185) 278,1^{c,d} ± 44,31 (360) n = 50; CV = 15,93 %
P. reflexa	(41) 58,47^{a} ± 13,68 (75) n = 5; CV = 23,4 %	(80) 104,4^{f} ± 12,85 (140) n = 25; CV = 12,31 %	(5) 5,75^{b} ± 0,645 (-6,25) n = 10; CV = 11,22 %	(310) 417,2^{e} ± 69,16 (580) n = 25; CV = 16,58 %
P. venezuelensis	(97) 256,21^{b,c,d} ± 137,44 (534) n = 10; CV = 53,64 %	(15) 24,4^{b,c} ± 3,99 (30) n = 50; CV = 16,35 %	(3,75) 3,958^{a} ± 0,479 (5) n = 18; CV = 12,1 %	(190) 302,8^{d} ± 66,62 (460) n = 50; CV = 22 %

NOTA: letras diferentes indican grupos estadísticamente diferentes de acuerdo a la prueba de Tukey (α = 0,01).

pequeñas y elementos de los vasos cortos ***(FIGURA 5)***. Con respecto al diámetro de los vasos, si se toman en consideración las categorías establecidas por IAWA Committe (1989), siete de las ocho especies estudiadas se ubican en la categoría inferior (vasos con diámetro < 50 µm), mientras que *P. reflexa* se ubica en la cercanía del límite inferior de la categoría III (vasos con diámetro promedio de 100-200 µm). Con relación a esto, Jáuregui *et al.* (2016) señalan que el diámetro relativamente bajo de los poros xilemáticos tanto de raíces y tallos de *Pentacalia*, probablemente constituya una estrategia de estas especies para asegurar la disponibilidad de agua, al disminuir la probabilidad del embolismo. En varias zonas del páramo, el agua suele ser un recurso limitado o no disponible por encontrarse en fase sólida, por lo que las plantas están sometidas a estrés hídrico por carencia de este elemento.

En relación a la frecuencia de vasos, *P. reflexa* se ubicó en la categoría IV (40-100 vasos/mm^2) de IAWA Committee (1989) mientras que el resto de las especies se ubicaron en la categoría V (> 100 vasos/mm^2). Esto coincide con lo indicado por Miller (1975), quien manifiesta que un número elevado de poros se reporta tanto en especies xerófilas como de ambientes fríos. Igual comportamiento se observó en la longitud de los elementos de los vasos, con *P. reflexa* ubicada en la categoría II (350-800 µm) de IAWA Committee (1989) y el resto de las especies en la categoría I (< 350 µm), notándose la diferencias anatómicas entre esta especie encontrada en la selva nublada con las otras siete que se recolectaron en el páramo.



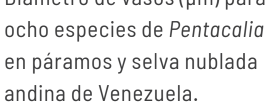


FIGURA 4.
Diámetro de vasos (µm) para ocho especies de *Pentacalia* en páramos y selva nublada andina de Venezuela.

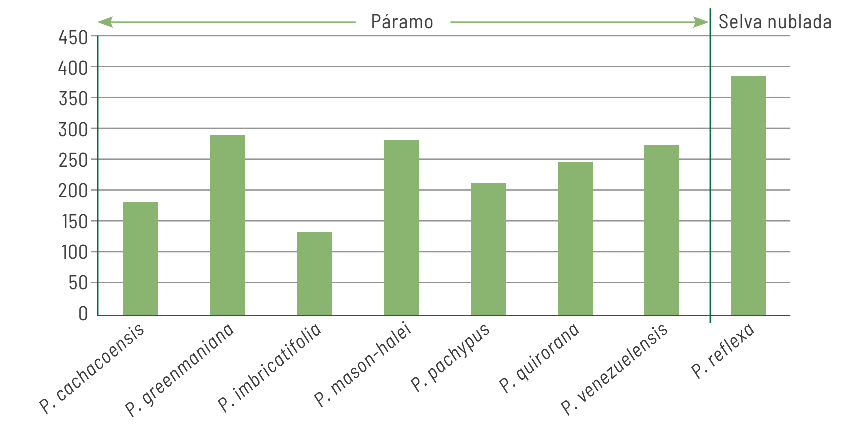


FIGURA 5.
Longitud de elementos de los vasos (µm) para ocho especies de *Pentacalia* en páramos y selva nublada andina de Venezuela.

Con base a la densidad y diámetro de los poros, longitud de los elementos de los vasos y diámetro de las punteaduras intervasculares se realizó un clúster, demostrando que existe una separación clara de *P. reflexa* con respecto a las otras siete especies que se recolectaron en el páramo **(FIGURA 6A)**. Reforzando lo anteriormente expuesto, el escalamiento multidimensional reflejó resultados similares al clúster, ya que las siete especies recolectadas en el ecosistema páramo son bastante próximas entre sí, separándose claramente de *P. reflexa* **(FIGURA 6B)**. Esta separación, desde el punto de vista ecológico, indica que bajo las condiciones más limitantes que representa la zona de vida de páramo, los individuos y especies que allí se desarrollan requieren de un sistema de conducción que garantice el aprovechamiento de la humedad disponible mediante vasos con características orientadas hacia la seguridad en la movilización de líquidos, incrementando la cantidad de vasos (mayores frecuencias) y reduciendo su tamaño. En el caso de *P. reflexa*, al existir condiciones menos limitantes como las que corresponden a la selva nublada en comparación con el páramo, los elementos de conducción incrementan su tamaño y disminuyen su frecuencia como un mecanismo para la búsqueda de eficiencia en conducción. Esto también se refleja en los valores de los índices de vulnerabilidad **(CUADRO 4,**

FIGURA 6.
(A) Clúster de similaridad de las especies estudiadas. **(B)** Diagrama de ordenación multidimensional no métrico para las especies analizadas (Pen reflex = *Pentacalia reflexa*, Pen cachac. = *P. cachacoensis*, Pen imbric = *P. imbricatifolia*, Pen pachy = *P. pachypus*, Pen greenm = *P. greenmaniana*, Pen mason = *P. mason-halei*, Pen quiror = *P. quirorana*, Pen venez = *P. venezuelensis*).

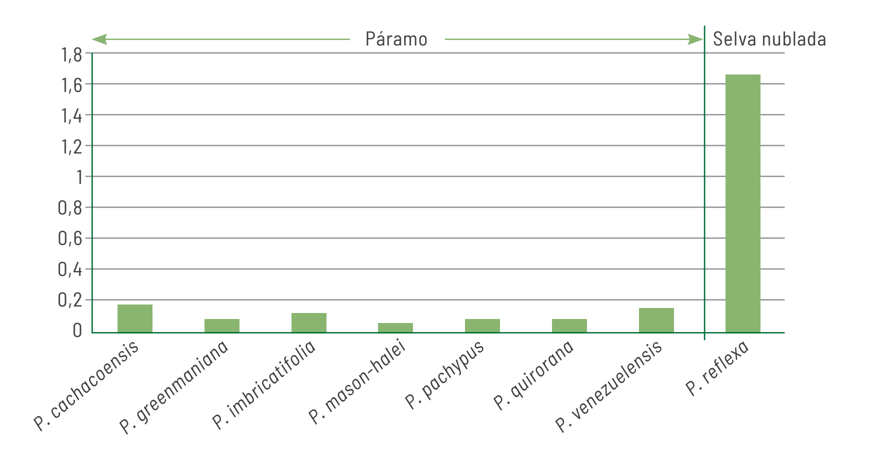


FIGURA 7.
Índice de vulnerabilidad para ocho especies de *Pentacalia* en páramos y selva nublada andina de Venezuela.

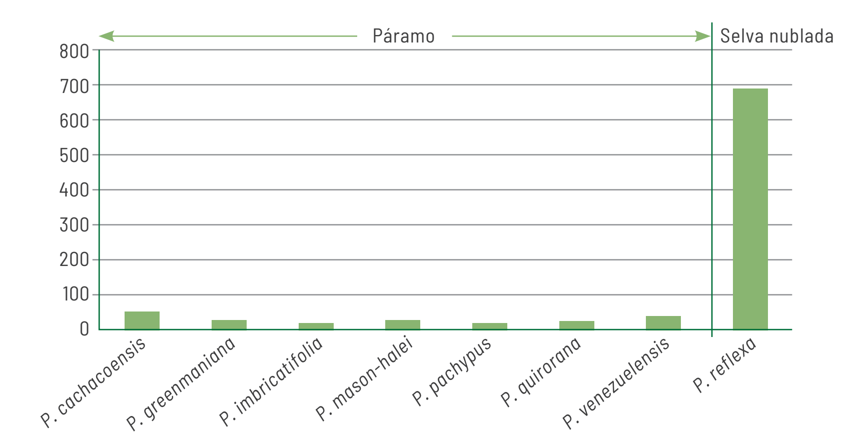


FIGURA 8. Índice de mesomorfia para ocho especies de *Pentacalia* en páramos y selva nublada andina de Venezuela.

FIGURA 7) y mesomorfía **(CUADRO 4, FIGURA 8)** los cuales indican un comportamiento principalmente de tipo xeromórfico. El 87,5 % de las especies estudiadas mostraron índices por debajo de los límites establecidos para considerarlas xeromorfas (IV < 1; IM < 75). Sólo *P. reflexa* (especie de selva nublada) mostró valores superiores a los indicados (IV = 1,785; IM = 744,9). Además de la diferencia en aspectos cuantitativos, también es notable el desarrollo de engrosamientos espiralados en todas las especies colectadas en la zona de páramo, carácter que busca reducir la posibilidad de embolismos generados por altas tensiones en los vasos y garantiza una mayor seguridad en la conducción.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BADILLO, V., S. DÍAZ-PIEDRAHITA & C. BENÍTEZ. 2008. Asteraceae. En: Hokche, O., P. Berry & O. Huber (eds). *Nuevo catálogo de la flora vascular de Venezuela.* pp. 230-265. Fundación Instituto Botánico de Venezuela Dr. Tobías Lasser. Caracas, Venezuela.

BRICEÑO, B. & G. MORILLO. 2002. Catálogo abreviado de las plantas con flores de los páramos de Venezuela. Parte I. Dicotiledóneas (Magnoliópsida). *Acta Botanica Venezuelica* 25 (1): 1-46.

CARLQUIST, S. 1977. Ecological factors in wood evolution: a floristic approach. American Journal of Botany 64 (7): 887-896.

CARLQUIST, S. 2001. *Comparative wood anatomy*. Springer Verlag. Series in wood science. 2da edición. New York. 448 p.

EWEL, J., A. MADRIZ & J. TOSI. 1976. *Zonas de vida de Venezuela*. Miniterio de Agricultura y Cría. Fondo Nacional de Investigaciones Agropecuarias. Caracas, Venezuela. 270 p.

GUEVARA, J. 2007. *Flórula arborea del Bosque Universitario San Eusebio, La Carbonera, estado Mérida*. XVII Congreso Venezolano de Botánica. Memorias. pp. 123-125. Maracaibo, Zulia. Venezuela.

HOLDRIDGE, L. 1987. *Ecología basada en zonas de vida*. IICA. San José, Costa Rica.

HUBER, O. 2008. Breve síntesis de los grandes paisajes vegetales de Venezuela. En: Hokche, O., P. Berry & O. Huber (eds). *Nuevo catálogo de la flora vascular de Venezuela.* pp. 41-56. Fundación Instituto Botánico de Venezuela Dr. Tobías Lasser. Caracas, Venezuela.

IAWA COMMITTEE. 1989. IAWA List of microscopic features for hardwood identification. IAWA Bulletin new series 10 (3): 219-332.

JÁUREGUI, D., M. LAPP, P. TORRECILLA & T. RUÍZ-ZAPATA. 2016. Anatomía de raíces y tallos de *Pentacalia* Cass. (Asteraceae) presentes en Venezuela. *Pittieria* 40: 6-27.

LAPP, M. 2014. *Sistemática de Pentacalia Cass. y Monticalia Jeffrey (Asteroideae-Asteraceae) en Venezuela*. Tesis doctoral. Universidad Central de Venezuela, Facultad de Ciencias, Postgrado en Botánica. 445 pp.

LAPP, M., D. JÁUREGUI, P. TORRECILLA & T. RUÍZ-ZAPATA. 2013a. Anatomía de la lámina foliar de diez especies de *Pentacalia* Cass. (Senecioneae-Asteraceae), presentes en Venezuela. *Ernstia* 23 (1): 25-46.

LAPP, M., T. RUÍZ-ZAPATA & P. TORRECILLA. 2013b. Nueva especie de *Pentacalia* Cass. (Senecioneae-Asteraceae). *Ernstia* 23 (1): 15-24.

LEÓN H., W. 2016. Caracterización de elementos xilemáticos de conducción de 40 especies de El Dorado-Santa Elena de Uairén (estado Bolívar, Venezuela. *Pittieria* 40: 28-53.

LEÓN H., W. & L. GÁMEZ. 2018. Anatomía de la madera de ocho especies de *Pentacalia* (Asteraceae) en Venezuela. *Caldasia* 40: 41-53.

LLAMBI, L. & A. SOTO. 2012. Ecología de páramos. En: Llambí, L., A. Soto, R. Célleri, Bert de Bievre, B. Ochoa & P. Borja (eds). *Páramos andinos*. *Ecología, hidrología y suelos de páramo.* pp. 1-87. Proyecto Páramo Andino.

MILLER, H. 1975. *Anatomical characteristics of some woody plants of the Angmassalik district of southeast Greenland*. C. A. Reitzel Meddelelser om Grønland Series. 30 pp.

OSKOLSKI, A. & S. JANSEN. 2009. Distribution of scalariform and simple perforation plates within the vessel network in secondary xylem of Araliaceae and its implications for wood evolution. *Plant Systematics and Evolution* 278: 43-51.

PITTIER, H. 1937. Clasificación de los bosques. *Boletín de la Sociedad Venezolana de Ciencias Naturales IV* (30): 93-110.

SAGÁSTEGUI, A. & E. RODRÍGUEZ. 2009. Una nueva especie de *Pentacalia* (Senecioneae: Asteraceae) del norte de Perú. *Revista Peruana de Biología* 16 (2): 157-160.

SALGADO, B. & H. PAZ. 2016. Escalando de los rasgos funcionales a procesos poblacionales, comunitarios y ecosistémicos. En: Salgado, B. (eds). *La ecología funcional como aproximación al estudio, manejo y conservación de la biodiversidad: protocolo y aplicaciones.* pp. 13-35. Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander Von Humboldt. Bogotá, Colombia.

SALGADO, B., E. PULIDO, M. CABRERA, C. RUÍZ & H. PAZ. 2016. Protocolo para la medición de rasgos funcionales en las plantas. En: Salgado, B. (eds.). *La ecología funcional como aproximación al estudio, manejo y conservación de la biodiversidad: protocolo y aplicaciones.* pp. 37-79. Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander Von Humboldt. Bogotá, Colombia.

SARMIENTO, G., M. MONASTERIO, A. AZÓCAR, E. CASTELLANO & J. SILVA. 1971. *Estudio integral de las cuencas de los ríos Chama y Capazón. Subproyecto III. Vegetación natural*. Instituto de Geografía y Conservación de los Recursos Naturales. Universidad de Los Andes. Facultad de Ciencias Forestales. Mérida, Venezuela. 84 p.

VEILLON, J. 1994. *Especies forestales autóctonas de los bosques naturales de Venezuela*. Instituto Forestal latinoamericano.2da edición. Mérida, Venezuela. 226 p.

WIESER, G. & TAUSZ, M. 2007. *Tree at their upper limit. Tree limitation at the Alpine Timberline*. Groningen: Springer.

ISSN(e) 2244-8888

Pittieria
42
ENERO-DICIEMBRE 2018
págs. 22-31

Caracterización morfoanatómica foliar de piñas del Amazonas venezolano y plantas obtenidas por organogénesis *in vitro*

Leaf morphoanatomical characterization of pineapple from the Venezuelan Amazonas and plants obtained by *in vitro* organogenesis

por

ADRIANA PINEDA[1], TERESA E. VARGAS[1], MARCIA ESCALA[2] y EVA DE GARCÍA[1]

1 Laboratorio de Biotecnología Vegetal, Instituto de Biología Experimental, Facultad de Ciencias, Universidad Central de Venezuela.

2 Laboratorio de Morfoanatomía Vegetal, Instituto de Biología Experimental, Facultad de Ciencias, Universidad Central de Venezuela, **mescala2006@gmail.com**

RECIBIDO: noviembre 04 de 2017 / **ACEPTADO:** octubre 19 de 2018

RESUMEN

La piña *Ananas comosus* (L.) Merr es un fruto tropical de gran valor económico y social. Se reproduce vegetativamente y su tasa de crecimiento es lenta. La comunidad Piaroa de Betania del Topocho en el Amazonas reproduce la piña autóctona con baja tasa de multiplicación. Este cultivo presenta problemas fitosanitarios y genéticos, por ello, no obtienen el material necesario para nuevas plantaciones. La aplicación de métodos biotecnológicos a la propagación de las variedades autóctonas de piña, permitió proveer a dicha comunidad de material clonado, limpio de patógenos para satisfacer la demanda de material vegetal y el establecimiento de nuevas plantaciones. Los resultados obtenidos concuerdan con los publicados en otras investigaciones, donde se evalúan plantas micropropagadas de variedades y ecotipos de piña, utilizando el análisis morfoanatómico foliar, entre otros. En el presente estudio se comparan los patrones morfoanatómicos de plantas madres del ecotipo Tabë Känä, con los de las plantas obtenidas en el proceso de propagación *in vitro.* Una vez establecidos los patrones de tipificación y comparación entre las plantas donadoras o madres y las obtenidas durante el proceso de micropropagación, se evaluaron los efectos de las condiciones del cultivo *in vitro* sobre las plantas micropropagadas. De esta manera se comprobó que el proceso no ocasionó ninguna alteración y se verificó que se trata de modificaciones fenotípicas temporales, asociadas con las condiciones del cultivo *in vitro.*
PALABRAS CLAVE: Piña, morfoanatomía, hoja, cultivo *in vitro*, vitroplantas.

ABSTRACT

The pineapple is a tropical fruit of high commercial and social value. It is produced vegetatively and it has a slow growth rate. The Piaroa community of Betania del Topocho in the Amazonas reproduces the native pineapple with a low multiplication rate. This culture presents phytosanitary and genetic problems; therefore they do not obtain the necessary material for new plantations. By means of biotechnological methods for the native pineapple varieties propagation, it was possible to supply the aforementioned community with cloned pathogen-free material to meet the demand of vegetal material and set the establishment of new plantations. The obtained results match other investigations, where micropropagated plants of pineapple varieties and ecotypes have been studied by means of the leaf morphoanatomical analysis, among others. In this study, the Tabë Känä ecotype mother plants morphoanatomical patterns were compared with those of the plants obtained by the process of *in vitro* propagation. Being established the patterns for classification and comparison between the donors or mother plants and those obtained in micropropagation, the effects of the *in vitro* culture conditions were evaluated on the micropropagated plants. Thus, it was confirmed that the process did not produce any alterations and it was verified that it is about temporary phenotypical modifications produced by the *in vitro* culture conditions.
KEY WORDS: Pineapple, morphoanatomy, leaf, *in vitro* culture, vitroplants.

INTRODUCCION

El cultivo de la piña en Venezuela es uno de los más importantes, por la gran demanda y consumo de sus frutos. A nivel mundial, nuestro país se encuentra dentro de los principales productores, siendo la producción nacional de 452.654 toneladas métricas para el año 2016 (FAO 2016). Por esta razón, se ha desarrollado un gran interés por la investigación de métodos de propagación que aceleren la producción de propágulos para la siembra en el campo, entre los cuales cabe señalar el cultivo *in vitro* de yemas que permite mejorar sustancialmente el proceso de multiplicación. Casale y De García (1987) y García *et al.* (2008), trabajando con las variedades Española Roja, Brecheche y Nacional, y Saucedo *et al.* (2008) en Puerto Rico, trabajando con las variedades Hawaiana y Champaka lograron la supresión de latencia de yemas axilares de plantas adultas, utilizando los mismos reguladores de crecimiento a una proporción de 4:1 auxina: citoquinina. En otras investigaciones se encontraron algunas variedades como la Queen Australia quien requería para la brotación concentraciones de citocininas 100 veces mayor que las de auxinas (Mogollón *et al.* 2004). García *et al.* (2008) obtuvieron altas tasas de multiplicación de brotes de piña Española Roja, utilizando concentraciones iguales de auxinas y citocininas en un sistema de inmersión temporal. En esta misma línea de investigación, Pineda *et al.* (2012), Pineda *et al.* (2014) y Blanco *et al.* (2017) establecen el proceso de la organogénesis para la clonación de plantas de Española Roja y de los ecotipos Tabë Känä y Gobernadora, estos dos últimos provenientes del Amazonas y utilizan para ello, secciones de hojas de la planta en el establecimiento del sistema de propagación, lo cual permite una mayor eficiencia del método.

Previamente a la micropropagación, se debe realizar la caracterización morfoanatómica de la hoja de las plantas madres o donadoras del explante, con el propósito de determinar posibles indicadores morfoanatómicos que permitan evaluar la homogeneidad de las plantas que se obtengan en dicho proceso Brito *et al.* (2016). En este orden de ideas, Pineda *et al.* (2012) también evalúan para la variedad Española Roja la existencia de posibles variaciones morfoanatómicas presentes en la estructura foliar de la población clonal obtenida mediante el proceso organogénico, con base en estudios realizados por Santa Cruz *et al.* (2006) y Hazarika (2006) quienes reportan algunas alteraciones en las plantas durante el cultivo. En el presente trabajo, es nuestro interés, complementar los estudios antes mencionados, mediante la caracterización morfoanatómica de la hoja de plantas del ecotipo Tabë Känä, obtenidas por el mismo proceso organogénico. Se comparan éstas, con las plantas donadoras de los explantes (plantas madres) y se determina, si se producen variaciones en la estructura foliar de la población clonal, como consecuencia de las condiciones del cultivo *in vitro.* Además, mediante la aplicación de los métodos de micropropagación se logra proporcionar a la comunidad indígena de plantas libres de patógenos, de mejor calidad y en mayor número en comparación a la multiplicación tradicional, las cuales pueden ser utilizadas para la producción de frutos destinados a la comercialización.

MATERIALES Y MÉTODOS

La evaluación de los posibles cambios en la morfoanatomía de las hojas de plantas obtenidas por organogénesis in vitro, se realizó mediante una comparación de los caracteres cualitativos

con mayor valor diagnóstico de acuerdo con la metodología convencional y la bibliografía consultada. Los caracteres morfoanatómicos evaluados fueron: coloración de la hoja, presencia de espinas en el borde, presencia de escamas peltadas, grosor de la cutícula, epidermis, hipodermis mecánica, parénquima acuífero, presencia de cristales de tipo rafidio, tipos de haces vasculares, presencia de casquetes de esclerénquima en éstos, aerénquima, número de fibras extra vasculares.

MATERIAL VEGETAL

Se seleccionaron hojas de plantas de Tabë Känä creciendo en diferentes condiciones de cultivo: ***a)*** hojas de plantas madres mantenidas en vivero (a los 12 meses de cultivo), ***b)*** hojas de las plantas madres obtenidas por inducción de yemas pre-existentes *in vitro* y mantenidas *in vitro* (a los 8 meses de cultivo), ***c)*** hojas de las plantas hijas obtenidas por organogénesis y mantenidas *ex vitro* (a los 8 meses de cultivo) y ***d)*** hojas de las plantas hijas obtenidas por organogénesis y mantenidas *in vitro* (a los 8 meses de cultivo) . Se tomó aleatoriamente una hoja de tres plantas creciendo en cada una de las condiciones de cultivo. Se realizaron cortes a mano alzada y se verificó en la totalidad de éstos, la homogeneidad de las características observadas, dichos cortes fueron coloreados con azul de toluidina en solución acuosa al 1 % y fijados en glicerina al 50 %, siguiendo el protocolo de Roth (1964).

La morfología externa fue observada en un microscopio estereoscópico marca Zeiss KL1500, mientras que los cortes anatómicos fueron observados a través de un microscopio óptico marca Nikon 14 MLAB-2 y un microscopio óptico con luz polarizada marca Nikon OPTIPHOT; se tomaron fotografías en cada caso con una cámara digital CASIO EXILIM de 8.1 Mp acoplada a los mismos. El cálculo del aumento total de las fotografías fue realizado mediante la multiplicación del aumento del objetivo por el aumento del ocular.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

CARACTERIZACIÓN DE LAS HOJAS DE PLANTAS DE TABË KÄNÄ EN DIFERENTES CONDICIONES DE CULTIVO

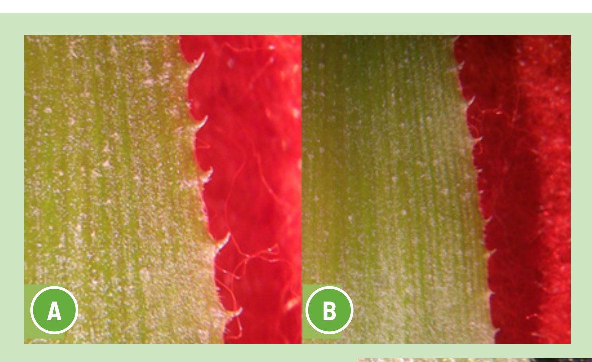
Los caracteres morfológicos y anatómicos cualitativos evaluados se presentan en el **CUADRO 1**. En éste se puede verificar al comparar la morfología y anatomía de la hoja de las plantas madres y de las plantas regeneradas, que existen algunas diferencias importantes entre ellas. Una de éstas, es la observación del color de la lámina el cual varía de intensidad, siendo verde intenso en las hojas de las plantas madres *ex vitro* e *in vitro* y verde pálido en las hojas de las plantas hijas, tanto *ex vitro* como *in vitro.*

En la **FIGURA 1** también se muestra la morfología de las hojas de Tabë Känä, las cuales presentaron hojas con color verde y márgenes espinosos de tamaño variable en todas las condiciones, tanto *in vitro* como *ex vitro*, incluso en un estado de desarrollo temprano. Estos resultados contrastan con lo reportado para Española Roja, que bajo las mismas condiciones de cultivo descritas en este trabajo, presentan hojas con antocianinas solo en la planta madre *ex vitro* y márgenes con espinas en las hojas de las plantas en las diferentes condiciones de cultivo, excepto en las de las hojas de las plantas hijas obtenidas por organogénesis *in vitro* (Pineda *et al.* 2012).

Observando comparativamente algunos aspectos de la estructura foliar de las plantas en

CUADRO 1. Caracterización morfológica y anatómica de hojas de plantas de Tabë Känä en diferentes condiciones de cultivo.

CARÁCTER		MATERIAL EXAMINADO			
		MADRE *EX VITRO*	MADRE *IN VITRO*	HIJA *EX VITRO*	HIJA *IN VITRO*
Lámina	Color				
	Verde intenso	+	-	-	-
	Verde pálido	-	-	+	+
Epidermis	Borde con espinas	+	+	+	+
	Escamas peltadas	+	+	+	+
	Cutícula gruesa	+	-	-	-
	Estomas epidermis inferior	+	+	+	+
	Estomas indiferenciados	-	+	+	+
Hipodermis	Hpodermis acuífera	+	+	+	+
	Hipodermis mecánica	+	-	-	-
Parénquima acuífero	Heterogéneo	+	-	-	-
	Cristales tipo rafidio	+	+	+	+
Aerénquima	Presencia	+	-	-	-
Haz vascular	Heterogéneo	+	-	-	-
	Homogéneo	-	+	+	+
	Casquetes de fibras	+	+	-	-
Fibras extravasculares	Dos filas	+	-	-	-



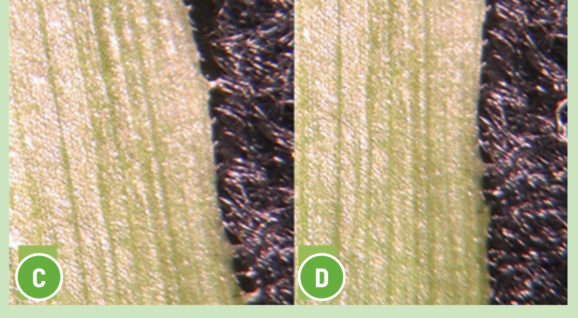


FIGURA 1.
Hojas de plantas de Tabë Känä:
A) Planta madre *ex vitro*,
B) Planta madre *in vitro*,
C) Planta hija *ex vitro*,
D) Planta hija *in vitro* (10X).

las diferentes condiciones de cultivo ***(CUADRO 1 y FIGURAS 2 y 3)***, específicamente podemos destacar la epidermis inferior con cutícula engrosada en la planta madre *ex vitro,* mientras que bajo las otras condiciones, las plantas presentan una cutícula delgada. La hipodermis superior e inferior consiste de células redondeadas con paredes delgadas en todas las plantas, excepto en la planta madre *ex vitro* donde se observa una hipodermis mecánica con paredes engrosadas en ambas epidermis, una hipodermis acuífera y un parénquima acuífero mucho más desarrollado. Seguidamente, se observa el clorénquima con haces vasculares y se destaca la ausencia de casquetes de esclerénquima y la poca diferenciación de estos haces en las plantas *in vitro*. En plantas mantenidas *in vitro* de *Ananas comosus* cv. Perola, también se reporta la presencia de una hipodermis acuífera menos pronunciada y un mayor desarrollo en las plantas *ex vitro* (Santa Cruz *et al.* 2006). En el trabajo de Pineda *et al.* (2012) se señala que la presencia de hipodermis y parénquima acuífero, es un carácter fijado genéticamente que además muestra plasticidad fenotípica en el número de capas y tipos celulares. Es posible que el poco desarrollo de la hipodermis acuífera de las plantas *in vitro,* sea efecto de las condiciones de cultivo con iluminación controlada en comparación con las condiciones de vivero de las plantas madres. La presencia de hipodermis acuífera en las hojas de las plantas cultivadas *in vitro*, parece por otra parte, estar facilitando e incrementando la supervivencia de dichas plantas cuando son transferidas a las

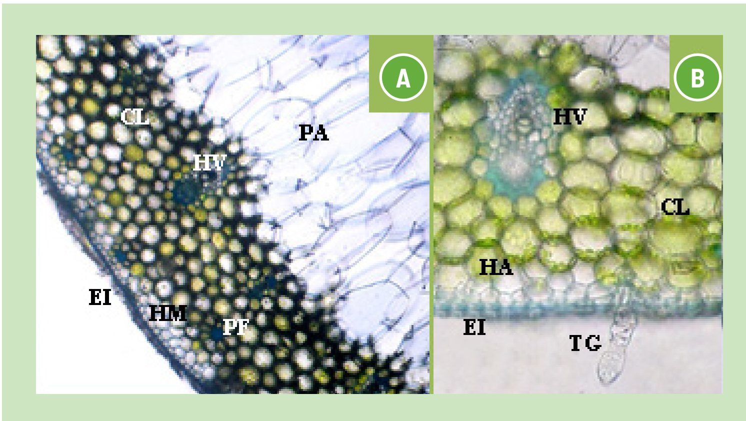
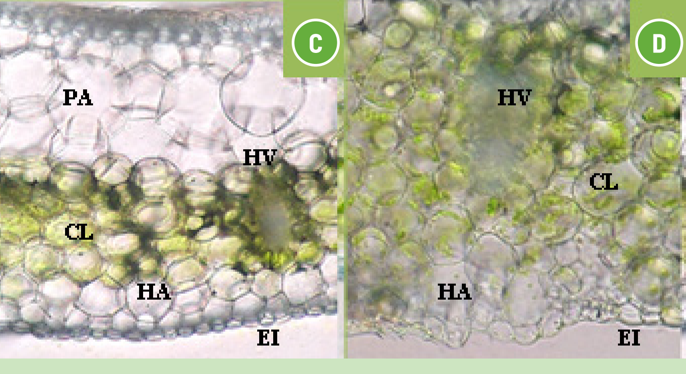


FIGURA 2.
Comparación de la anatomía de la hoja de Tabë Känä en las diferentes condiciones de cultivo:
A) Planta madre *ex vitro*,
B) Planta madre *in vitro*,
C) Planta hija *ex vitro*
D) Planta hija *in vitro*, (200X).

Se observa parénquima acuífero **(PA)**, clorénquima **(CL)**, haz vascular **(HV)**, paquetes de fibras extravasculares **(PF)**, hipodermis mecánica inferior **(HM)**, tricoma glandular **(TG)** y epidermis inferior **(EI)**.



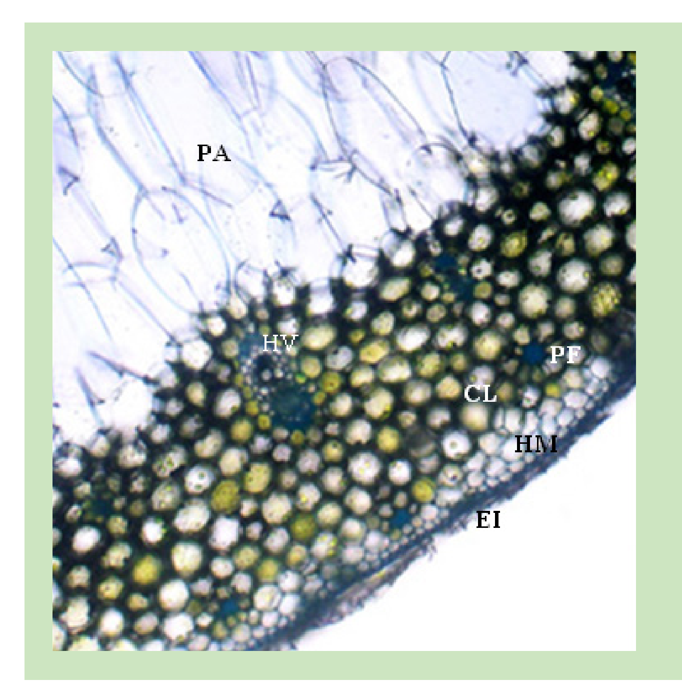


FIGURA 3.
Detalle de la anatomía de la hoja de la Planta madre *ex vitro* de Tabë Känä. Se observa parénquima acuífero **(PA)**, clorénquima **(CL)**, haz vascular **(HV)**, paquetes de fibras extravasculares **(PF)**, hipodermis mecánica inferior **(HM)** y epidermis inferior **(EI)** (300X).

condiciones de vivero, ya que estos tejidos permiten una importante reserva de agua y aportan suculencia favoreciendo la aclimatación de las mismas a las nuevas condiciones.

En las hojas de las plantas madres de piña, en estudio ***(CUADRO 1 y FIGURA 3)*** los paquetes de fibras extravasculares en conjunto con la epidermis, hipodermis mecánica y casquetes de fibras perivasculares, aumentan la rigidez de la lámina foliar ofreciendo un sostén mecánico, posiblemente como agente de protección del mesófilo durante condiciones de estrés térmico e hídrico (Krauss 1949; Pyykkö 1966; Brighigna *et al.* 1984).

La reducción de las fibras extra y perivasculares, aparentemente es explicada por el mínimo estrés al que están sometidas las plantas de piña cultivadas *in vitro*. En el estudio realizado para el ecotipo Tabë Känä, las plantas mantenidas *in vitro* mostraron alteraciones anatómicas como: reducción del engrosamiento de las paredes de células que intervienen en el sostén de la planta, presencia de tricomas glandulares, cutícula no distinguible, ausencia de acanalamiento en la epidermis inferior, reducción de las capas de hipodermis acuífera y parénquima acuífero y ausencia de aerénquima. Estas alteraciones anatómicas también fueron observadas en el cultivar de piña Española Roja (Pineda *et al.* 2012). Así mismo, Santa Cruz *et al.* (2006), evidencian ausencia de aerénquima en hojas de piña mantenidas *in vitro*. Aparentemente, las plantas de piña *in vitro* no requieren de las ventajas que ofrece el aerénquima como la flexibilidad y mayor circulación de aire en la lámina foliar, como fue sugerido por Mauseth (1988) para plantas crecidas en campo.

Proença & Sajo (2007) reportan idioblastos que contienen cristales de oxalato de calcio tipo rafidio, los cuales fueron encontrados en el parénquima acuífero de todas las especies de *Bromelia* estudiadas. Estos cristales también

FIGURA 4.
Cristales de oxalato de calcio tipo rafidio, vistos con luz polarizada en el parénquima acuífero de la hoja de Tabë Känä. Cristales tipo rafidio **(CR)** (200X).

observados en esta investigación, son particularmente abundantes en las hojas de las plantas cultivadas *in vitro,* lo cual puede corresponderse a la composición del medio de cultivo, el cual es rico en minerales como el calcio ***(CUADRO 1 y FIGURA 4)***. Tomlinson (1969), Sousa *et al.* (2005), Proença & Sajo (2007) y Pineda *et al.* (2012), reportan que dichos cristales pueden tener carácter diagnóstico para la familia Bromeliaceae.

También es interesante destacar la importancia de las escamas peltadas para este grupo de plantas, según Tomlinson (1969), las escamas peltadas representan una variación natural distintiva para la familia Bromeliaceae. Tales estructuras fueron encontradas en las plantas de todas las condiciones estudiadas ***(CUADRO 1)***.

En diferentes investigaciones, se ha reportado que el fenotipo de las plantas que crecen en condiciones *in vitro* está caracterizado por presentar, respecto a aquellas desarrolladas en ambientes *ex vitro*; tallos más delgados, menor cantidad de ceras cuticulares y epicuticulares, reducción de tejidos mecánicos de soporte, incremento de contenido de agua en las células, escasa capacidad fotosintética, estomas con baja funcionalidad y crecimiento heterótrofo o mixótropo (Denng & Donelly 1993, citado en Agramonte *et al.* 1998).

En esta investigación, observamos que en todas las plantas que crecieron en condiciones de cultivo *in vitro,* se presentaron las alteraciones en el fenotipo antes mencionadas, sin embargo se pudo constatar que éstas se revirtieron completamente, una vez que fueron trasladadas a condiciones de aclimatación y vivero. En consecuencia, tal como ha sido reportado previamente, los cambios fenotípicos presentados por dichas plantas, son inducidos por las condiciones del cultivo *in vitro*, es decir, como respuesta a la ausencia de factores estresantes que sí están presentes en los viveros y en el campo (Agramonte *et al.* 1998, Hazarika 2006, Pineda *et al.* 2012).

CONCLUSIONES

- El patrón anatómico foliar observado en las plantas analizadas, es en general, el típico de la familia Bromeliaceae. Sin embargo, los canales de aerénquima y paquetes de fibras extravasculares que se observan entre los haces vasculares de las plantas donadoras, están ausentes en las vitroplantas.

- Los caracteres morfoanatómicos foliares alterados en las plantas de piña obtenidas *in vitro*, se revirtieron durante el proceso de aclimatación y posterior desarrollo en condiciones de vivero. En consecuencia, se podría inferir que los cambios fenotípicos observados no se deben a variaciones genéticas estables, sino que están determinados por las condiciones del cultivo *in vitro.*
- El análisis morfoanatómico foliar constituye una herramienta que permite evaluar los efectos de las condiciones del cultivo *in vitro* sobre las plantas de piña micropropagadas.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGRAMONTE, D., F. JIMÉNEZ & M. DITA. 1998. Aclimatización. *In*: J. N. Pérez Ponce (ed.). Propagación y mejora genética de plantas por biotecnología. *Instituto de Biotecnología de las Plantas,* Cuba, 193-206.

BLANCO, H., T.VARGAS & E. DE GARCÍA. 2017. Regeneración *in vitro* de plantas de piña (*Ananas comosus*) ecotipo amazónico Gobernadora. *Rev. Colomb. Biotecnol.* 19(1): 7-20.

BRIGHIGNA, L., A.C. FIORDI & M.R. PALANDRI. 1984. Structural characteristics of mesophyll in some *Tillandsia* species. *Phytomorphology* 34: 191-200.

BRITO, A., H. BLANCO, M. ESCALA, T. VARGAS & E. GARCÍA. 2016. Morfoanatomía foliar de dos ecotipos de *Ananas comosus* (L.) Merr. del Amazonas venezolano: Amarilla y Yärä Känä. *Acta Bot. Venez.* 39(2): 158-179.

CASALE, I. & E. DE GARCÍA. 1987. Multiplicación clonal acelerada de tres variedades de piña. ACEVIV (2). *Colombia*: 3-18.

FAOSTAT 2016 Documento electrónico disponible en: http://www.fao.org/faostat/en/#/QC

GARCÍA, E., A. GARAY, T. VARGAS & H. BLANCO. 2008. Micropropagación clonal masiva de piña (*Ananas comosus*). *MIBE*. 5: 181-184.

HAZARIKA, B. N. 2006. Morpho-physiological disorders in *in vitro* culture of plants. *Scientia Hort.* 108: 105-120.

KRAUSS, B.H. 1949. Anatomy of the vegetative organs of the pineapple *Ananas comosus* (L.) Merr. II-The leaf. *Botanical Gazette* 110: 333-404.

MAUSETH, J.D. 1988. *Plant Anatomy.* California, Benjamin/Cummings Publishing Company.

MOGOLLÓN, N., J. DÍAZ & N. HERNÁNDEZ. 2004. Multiplicación clonal y enraizamiento *in vitro* de *Ananas comosus* L. “Queen Australia”. *Revista Facultad Agronomía (LUZ).* 21 Supl. 1:15-21.

PYYKKÖ, M. 1966. The leaf anatomy of East Patagonian xeromorfic plants. *Annales Botanici Fenici.* 3: 453-622.

PINEDA, A., T. VARGAS, M. ESCALA & E. DE GARCÍA. 2012. Organogénesis *in vitro* en piña Española Roja y morfoanatomía foliar de las plantas obtenidas en el proceso. *Bioagro* 24(3): 175-186.

PINEDA, A., T. VARGAS & E. DE GARCÍA. 2014. Regeneración de Ananas comosus (L.) Merr, ecotipo Tabë Känä, mediante organogénesis indirecta. Bioagro 26(3): 135-142

PROENÇA, S. & M. SAJO. 2007. Anatomia foliar de Bromélias ocorrentes em áreas de Cerrado do Estado de São Paulo, Brasil. *Acta Bot. Bras.* 21: 657-673.

ROTH, I. 1964. *Microtecnia Vegetal*. Ediciones UCV. Imprenta Universitaria, Universidad Central de Venezuela, Caracas. 96 pp.

SANTA CRUZ, S., D. GRACIANO-RIBEIRO, J. BATISTA, T. AQUINO & L. COPATI. 2006. Anatomia foliar de plantas micropropagadas de Abacaxi. *Pesq. Agrop.* Brasil, Brasília, 41: 185-194.

SAUCEDO S.G., E.L. RAMOS, E. VARAS & F. CARMIGNIANI. 2008. Propagación clonal in vitro de piña (*Ananas comosus* L. Merr) Variedades Champaka y Hawaiana. *Ciencia y Tecnología* (1): 49-54.

TOMLINSON, P.B. 1969. *Comelinales - Zingiberales*. pp. 193-294. In: C.R. Metcalfe (ed.). *Anatomy of the monocotyledons:* III. Oxford, Claredon Press.

ISSN(e) 2244-8888

Pittieria
42
ENERO-DICIEMBRE 2018
págs. 32-51

Embriogénesis somática en tres cultivares de yuca (*Manihot esculenta* Crantz) a partir de diferentes explantes

Somatic embryogenesis in three manihot cultivars (*Manihot esculenta* Crantz) from different explants

por

ALBARRÁN, J.[1]; TRUJILLO, I.[2]; FUENMAYOR, F.[1]; FERNÁNDEZ H.[1]; TORREALBA, M.[1]; MARÍN, C.[1] y DÍAZ-LÓPEZ, A.[1]

1 Unidad de Biotecnología. Centro Nacional de Investigaciones Agropecuarias (INIA-CENIAP). Instituto de Investigaciones Agrícolas (INIA). Av. Universidad, zona universitaria, vía El Limón, Edificio 9, Campo Experimental, Maracay, Aragua. Código Postal 2105.

2 Universidad Nacional Experimental Simón Rodríguez. Instituto de Estudios Científicos y Tecnológicos (IDECYT). Avenida Mara, Altos del Cují, Colinas de la Mariposa, Edificio IDECYT-UNESR, San Antonio de los Altos, Miranda, Venezuela. Código Postal 1204.

RECIBIDO: mayo 16 de 2018 / **ACEPTADO:** octubre 26 de 2018

RESUMEN

La yuca, junto con el maíz y el arroz, constituyen las fuentes de energía más importantes de las regiones tropicales del mundo y una de las especies de mayor producción de carbohidratos en el trópico para consumo humano. La embriogénesis somática representa un método de propagación alternativo con alta producción de plantas de calidad. El objetivo de este trabajo fue determinar el potencial embriogénico de tres cultivares de yuca, seleccionados por sus características agronómicas: "PER-183", "Cubana" y "Criolla". Se utilizaron yemas axilares, ápices caulinares y hojas jóvenes (0,8-2,0 cm de longitud), provenientes de vitroplantas conservadas *in vitro*. El medio de cultivo consistió de MS; $CuSO_4$ 0,474 $mg.L^{-1}$; sacarosa 20 gL^{-1} con cuatro concentraciones de 2,4-D y picloram: 0; 6; 8 y 10 $mg.L^{-1}$ y Phytagel 3 $g.L^{-1}$ o Agar 6 $g.L^{-1}$. Se realizó análisis de varianza y prueba de medias de Tukey. El número de embriones somáticos fue significativamente superior (p=0,05) en PER-183 utilizando yema apical con 2,4-D 6 $mg.L^{-1}$, en hoja con 8 y 10 $mg.L^{-1}$ de 2,4-D y picloram respectivamente y en yema axilar de la posición 4 con picloram 8 $mg.L^{-1}$. Para el resto de los clones, los resultados obtenidos fueron significativamente inferiores al compararlos con PER-183 con los mismos reguladores de crecimiento. Se demostró el efecto del genotipo y tipo de explante destacando la propagación del clon PER-183. Los resultados obtenidos en este trabajo pueden ser empleados en procesos de mejoramiento del cultivo y disponibilidad de "semilla" de calidad para los productores.

PALABRAS CLAVE: Biotecnología, propagación *in vitro*, embrión somático, *Manihot esculenta*, ápice caulinar, regulador de crecimiento.

ABSTRACT

Cassava, together with maize and rice, are the most important energy sources in the tropical regions of the world and one of the species of higher carbohydrate production in the tropics for human consumption. Somatic embryogenesis represents an alternative propagation method with high production of quality plants. The objective of this work was to determine the embryogenic potential of three cassava cultivars *in vitro* conserved plants, selected for their agronomic characteristics: "PER-183", "Cubana" and "Criolla". Axillary buds, shoot apices and young leaves ($0.8^{-1}.2$ cm in length) were used, from vitroplants. The culture medium consisted of MS; $CuSO_4$ 0.474 $mg.L^{-1}$; Sucrose 20 gL^{-1} with four concentrations of 2,4-D and picloram: 0; 6; 8 and 10 $mg.L^{-1}$ and Phytagel 3 $g.L^{-1}$ or Agar 6 $g.L^{-1}$. Tukey test average and variance test were performed. The number of somatic embryos was significantly higher for p = 0.05 in PER-183when using the dose of 2,4-D 6 $mg.L^{-1}$ for apical bud, 8 and 10 $mg.L^{-1}$ of 2.4 -D and picloram respectively for leaf and 8 $mg.L^{-1}$ picloram for axillary bud position 4. For the rest of the clones, the results obtained were significantly lower for p = 0.05 when compared to PER-183 with the same growth regulators. The effect of the genotype and explant type was demonstrated by highlighting the propagation of the PER-183 clone. The results obtained in this work can be used in processes of improvement of the crop and availability of "seed" of quality for the producers.

KEY WORDS: Biotechnology, *in vitro* propagation, somatic embryo, *Manihot esculenta*, caulinar bud, growth regulator.

INTRODUCCIÓN

La yuca junto con el maíz y el arroz constituyen las fuentes de energía más importantes de las regiones tropicales del mundo. Es una de las especies vegetales de mayor producción de carbohidratos en el trópico para el consumo humano, alimentando a más de 500 millones de personas en el mundo, especialmente de países en desarrollo (Ceballos 2002). Tradicionalmente, se ha trabajado por el mejoramiento genético convencional del cultivo y por mejorar las prácticas culturales en fincas de pequeños productores con bajos recursos económicos y bajos rendimientos, con fines de subsistencia familiar; sin embargo, actualmente debido a la demanda industrial por los productos y subproductos de la yuca y a la necesidad de suministrarle plantas sanas a nuestros agricultores, se requiere mayor tecnificación y escalamiento de la producción.

Considerando la importancia tradicional del cultivo de la yuca y su escaso desarrollo en Venezuela, donde en los últimos años se ha presentado una reducción considerable en cuanto a volumen de producción y superficie cosechada (FEDEAGRO 2016), el uso de la biotecnología para la propagación masiva de clones, impactaría en la producción de "semilla" sana, libre de las principales enfermedades que atacan al cultivo, incluyendo aquellas de baja incidencia, pero que constituyen una amenaza potencial para el desarrollo del cultivo en el país, como es el caso de la enfermedad de etiología viral denominada "cuero de sapo" ocasionada por al menos dos virus; uno de la familia *Reoviridae*, género no asignado y un fitoplasma (Carvajal-Yepes *et al.* 2014).

Esta tecnología puede promover una mejora en los rendimientos, en la productividad y accesibilidad a los productores rurales organizados del país y la oportunidad de participar en la cadena de comercialización de la yuca como materia prima para el procesamiento industrial o para el consumo fresco, garantizando así un aumento en la producción de alimentos. La biotecnología puede contribuir en tal sentido, a la oferta de una "semilla" con la calidad requerida por nuestros agricultores, haciendo uso de las técnicas de cultivo de tejidos, marcadores moleculares e ingeniería genética (Fregene & Puonti-Kaerlas 2002). Mediante la propagación masiva por embriogénesis somática de genotipos seleccionados por sus características agronómicas, se pueden obtener plantas con buena condición fitosanitaria, genéticamente uniformes que beneficien a los productores de yuca del país. Con base en esta premisa se propuso como objetivo del presente trabajo determinar el potencial embriogénico de tres cultivares seleccionados por sus características agronómicas: PER-183, Cubana y Criolla.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se utilizaron tres clones de yuca conservadas *in vitro*: Cubana, seleccionado en la comunidad de Múcura del Municipio Zamora del estado Aragua, como un clon productivo; el clon Criolla, proveniente de la comunidad de Boconoito en el estado Portuguesa, señalando este clon como nativo de esa región, cuya superficie de siembra fue reducida por la introducción de un clon foráneo, conocido por "Armenia", motivo por el cual los productores de dicha zona lo quieren recuperar para incrementar nuevamente su siembra; y un tercer clon, el PER-183, proveniente de Colombia (CIAT 2006), considerado productivo y resistente a la enfermedad viral conocida como "cuero de sapo", el cual es conservado en

campo e *in vitro* en el banco de germoplasma de yuca del INIA-CENIAP, Maracay estado Aragua, el cual ha sido evaluado en campo presentando altos rendimientos, superando al rendimiento nacional (Marín *et al.* 2008).

El tipo de explante utilizado para la inducción embriogénica se representa en la ***FIGURA 1***.

Los explantes fueron precultivados por una semana en medio de cultivo MS básico y posteriormente en diferentes tratamientos con dos reguladores de crecimiento a diferentes concentraciones, como se esquematiza en el ***CUADRO 1***.

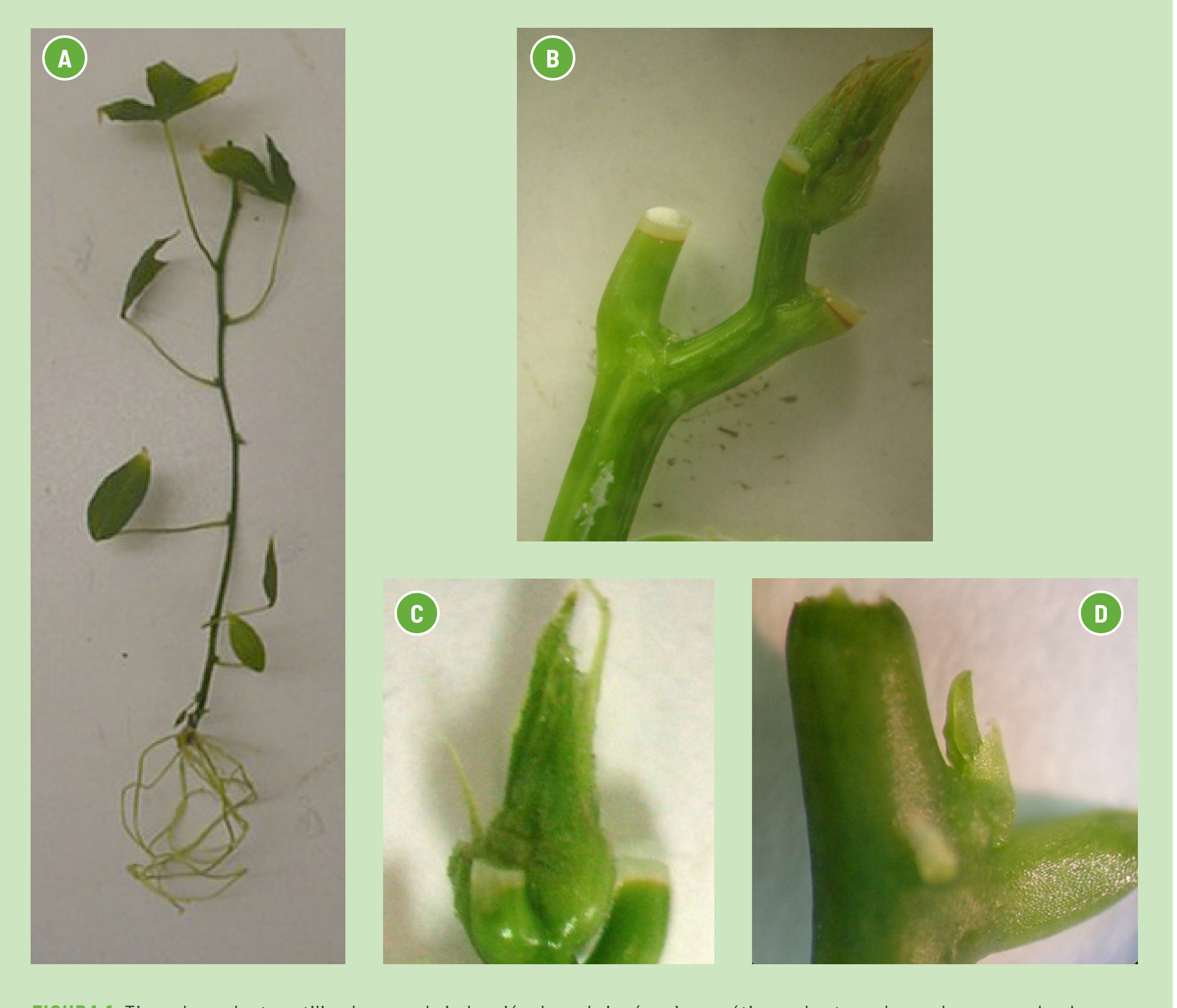


FIGURA 1. Tipos de explantes utilizados para la inducción de embriogénesis somática en los tres clones de yuca evaluados. **(A)** Vitroplanta de yuca, se observa la yema axilar del tercer nudo (YAX 3) y del cuarto nudo (YAX 4), **(B)** yema apical (YA) y axilar vista en microscopio estereoscópico 4X. En **(C)** y **(D)** se muestra las yemas apical y axilar respectivamente, vistas en microscopio estereoscópico 10X.

CUADRO 1. Tratamientos aplicados en los diferentes tipos de explantes utilizados para la embriogénesis somática en los tres clones de yuca.

TIPO DE EXPLANTE	MEDIO DE CULTIVO BÁSICO DE MURASHIGE Y SKOOG (1962)	DURACIÓN (DÍAS)	CONC. 2,4-D (MG.L^{-1})	CONC. PICLORAM (MG.L^{-1})
Todos	1. MS/3 + sacarosa 45 g.L^{-1} + Agar 7 g.L^{-1} o Phytagel 3 g.L^{-1}	7	0	0
1. Yema axilar posición 3			0, 4, 6, 8, 10	0, 4, 6, 8, 10
2. Yema axilar posición 4	2. MS + CuSO4 (0,74 mg.L^{-1}) + Sacarosa 20 g.L^{-1} +Agar (6 g.L^{-1}) o Phytagel 3 g.L^{-1}	45	0, 4, 6, 8, 10	0, 4, 6, 8, 10
3. Yema apical			0, 4, 6, 8, 10	0, 4, 6, 8, 10
4. Hoja joven (0,8-1,2 cm)			0, 4, 6, 8, 10, 12	0, 4, 6, 8, 10, 12

Los explantes se cultivaron en condiciones de oscuridad y a una temperatura de 25 ± 1 ºC durante todo el proceso de inducción embriogénica.

El diseño experimental para el cultivo de ápices caulinares, consistió en un arreglo factorial 3x4x2 sobre un diseño completamente aleatorizado (3 clones, 4 concentraciones de reguladores de crecimiento (RC) y 2 tipos de RC con 3 réplicas, el cual generó 24 combinaciones de tratamientos. Para el cultivo de hojas, se empleó un arreglo factorial 3x5x2 sobre un diseño completamente aleatorizado (3 clones, 5 concentraciones de RC y 2 tipos de RC con 3 réplicas, el cual generó 30 combinaciones de tratamientos. Para las yemas axilares, se empleó un diseño factorial 3x4x2x2 (3 clones, 4 concentraciones de RC, 2 tipos de RC y 2 posiciones de yema axilar) con 3 réplicas, el cual generó 48 combinaciones de tratamientos. Todos los tratamientos se evaluaron a los 45 días de la siembra, determinando el número de callos embriogénicos (CE), número de embriones somáticos (ES), número de callos no embriogénicos y número de explantes contaminados.

Los datos obtenidos en los experimentos fueron tabulados utilizando el programa Excel 2003 para Windows. Se utilizó el programa INFOSTAT versión 1.0. para el análisis estadístico de los resultados: análisis de varianza y prueba de media de Tukey en las variables que resultaron estadísticamente significativas.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

CULTIVO DE YEMAS AXILARES DEL TERCER Y CUARTO NUDO DE LOS TRES CLONES SELECCIONADOS A PARTIR DE PLANTAS IN VITRO

En los ***CUADROS 2A Y 2B***, se observa el efecto del cultivo de la yema axilar de la posición tres sobre el número promedio de CE y ES en los tres clones evaluados. El clon PER-183, presentó la mayor respuesta significativa en ambas variables con respecto a los clones Criolla y Cubana. Entre los tratamientos se observó que la mayor respuesta se obtuvo en el clon PER-183a la concentración de 8 mg.L^{-1} de Picloram (CE = 3,67

CUADRO 2A. Número promedio de callos embriogénicos (CE) obtenidos a partir del cultivo *in vitro* de yemas axilares de la posición 3, en tres clones de yuca con dos reguladores de crecimiento a diferentes concentraciones.

CLON	REGULADOR DE CRECIMIENTO							
	2,4-D (mg.L^{-1})				Picloram (mg.L^{-1})			
	4	6	8	10	4	6	8	10
PER-183	0,00 A e	3,00 A b	2,00 A c	2,67 A b	1,00 A d	2,33 A b	3,67 A a	2,67 A b
Criolla	0,00 A d	2,33 B a	2,00 A b	1,33 C c	0,00 B d	0,33 C d	2,67 B a	0,33 B d
Cubana	0,00 A d	1,67 C a	1,67 A a	2,00 B a	0,33 B d	1,00 B c	0,00 C d	0,33 B d

DMS ponderado: 0,49, según prueba de Tukey a un nivel de p=0,05. Letras mayúsculas indican diferencias entre clones y minúsculas entre tratamientos de RC.

CUADRO 2B. Número promedio de embriones somáticos (ES) obtenidos a partir del cultivo *in vitro* de yemas axilares de la posición 3, en tres clones de yuca con dos reguladores de crecimiento a diferentes concentraciones.

CLON	REGULADOR DE CRECIMIENTO							
	2,4-D (mg.L^{-1})				Picloram (mg.L^{-1})			
	4	6	8	10	4	6	8	10
PER-183	0,00 A g	32,33 A b	14,33 A d	6,33 A e	1,00 A f	28,33 A b	43,00 A a	25,00 A c
Criolla	0,00 A d	14,33 B a	14,33 A a	7,33 A c	0,00 B d	0,33 C d	10,67 B b	0,33 B d
Cubana	0,00 A c	9,33 C a	3,67 B b	4,33 B b	2,00 A	5,67 B b	0,00 C c	0,33 B c

DMS ponderado: 1,67, según prueba de Tukey a un nivel de p=0,05

CUADRO 3A. Número promedio de callos embriogénicos (CE) obtenidos a partir del cultivo *in vitro* de yemas axilares de la posición 4, en tres clones de yuca con dos reguladores de crecimiento a diferentes concentraciones.

CLON	REGULADOR DE CRECIMIENTO							
	2,4-D (mg.L^{-1})				Picloram (mg.L^{-1})			
	4	6	8	10	4	6	8	10
PER-183	0,00 A c	3,67 A a	3,00 A b	3,00 A f	3,00 A b	2,67 A b	3,67 A a	2,67 A b
Criolla	0,00 A e	1,33 C d	1,67 B c	2,00 B c	2,67 B b	2,67 A b	3,33 A a	1,67 B c
Cubana	0,00 A c	2,33 B a	1,67 B a	1,67 B a	2,00 C a	0,67 B b	1,67 B a	1,33 B a

DMS ponderado: 0,49, según prueba de Tukey a un nivel de p=0,05

CUADRO 3B. Número promedio de embriones somáticos (ES) obtenidos a partir del cultivo *in vitro* de yemas axilares de la posición 4, en tres clones de yuca con dos reguladores de crecimiento a diferentes concentraciones.

CLON	REGULADOR DE CRECIMIENTO							
	2,4-D (mg.L^{-1})				Picloram (mg.L^{-1})			
	4	6	8	10	4	6	8	10
PER-183	0,00 A g	41,33 A b	23,67 A d	14,33 A e	27,00 A c	15,67 A e	62,00 A a	11,33 A f
Criolla	0,00 A e	27,00 B a	19,00 B b	11,00 B c	14,00 B b	16,33 A b	8,67 B d	2,33 B e
Cubana	0,00 A b	11,67 C a	9,67 C a	5,00 C b	4,67 C b	0,67 B b	9,33 C a	2,33 B b

DMS ponderado: 2,80, según prueba de Tukey a un nivel de p=0,05

y ES = 43), seguido por la de 6 mg.L^{-1} de 2,4-D (CE = 3 y ES = 32,33). En los clones Criolla y Cubana la respuesta fue inferior; sin embargo, en Criolla para la variable ES se obtuvo una buena respuesta con 2,4-D en concentraciones de 6 y 8 mg.L^{-1} (14,3) y con Picloram a 8 mg.L^{-1} (10,67).

En cuanto a la yema axilar de la posición cuatro, observamos una tendencia similar a lo ocurrido con la yema axilar en posición tres ***(CUADRO 3A Y 3B)***, pero con mayor número promedio de ES. El clon PER-183 mostró la mejor respuesta en cuanto a CE y ES, siendo significativamente mayor en el tratamiento con Picloram a la concentración de 8 mg.L^{-1} (CE = 3,67 y ES = 62), seguido por el tratamiento 2,4-D 6 mg.L^{-1} (CE = 3,67 y ES = 41,33). El clon Criolla fue el segundo con mayor formación de ES con 2,4-D 6 mg.L^{-1} (27) y Picloram 4 mg.L^{-1} (14) y 6 mg.L^{-1} (16,33).

Con el clon Cubana se obtuvo la menor respuesta en cuanto a CE y ES en el cultivo de yemas axilares, tanto de la posición tres como cuatro al compararlo con los clones PER-183 y Criolla. La mayor formación de ES para este clon fue en 2,4-D 6 mg.L^{-1} en yemas de la posición cuatro (11,67).

Es importante resaltar que, bajo las condiciones experimentales de cultivo, el número de ES fue superior en las yemas axilares de la posición cuatro que la posición tres. El 2,4-D y Picloram a las concentraciones de 6 y 8 mg/L respectivamente, fueron las concentraciones más efectivas en inducir el proceso embriogénico en los tres clones evaluados, aunque la respuesta fue superior en el clon PER-183.

Los mejores resultados obtenidos al emplear la yema axilar cuatro, se debió quizás a la condición fisiológica del explante, particularmente al gradiente hormonal presente desde el ápice hacia la base, creado por los niveles endógenos y su acción sinergística/antagónica con los niveles de los reguladores de crecimiento exógenos (Ravindran *et al.* 2014). En investigaciones realizadas con Álamo, se observó un efecto basípeto polar de respuesta morfogenética al cultivar segmentos internodales de diferentes posiciones, aumentando la respuesta desde el ápice hacia la base como consecuencia de dicho gradiente (Douglas 1984; Pitekelabou *et al.* 2015).

Al comparar la respuesta diferencial de los tres genotipos, el clon PER-183 demostró ser superior que el Criolla y Cubana bajo las mismas condiciones de cultivo, particularmente en lo relativo a reguladores de crecimiento y dosis utilizadas. En 2006, Attehnkeng *et al.*, demostraron el efecto del genotipo en la inducción de embriogénesis somática, al explorar el germoplasma de yuca africano, encontrando que, de 11 genotipos evaluados, solo 7 fueron competentes para la regeneración por embriogénesis somática.

Mongomake *et.al.* (2015) regeneraron plantas de yuca a través de embriogénesis somática, cultivando meristemos apicales y lóbulos de hojas inmaduras como explantes en medio de Murashige & Skoog (1962), al emplear 33 o 50 µM de las auxinas Picloram (PIC), ácido 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D), Dicamba (Dic) y ácido α-naftalen acético (ANA). Los resultados indican que la frecuencia de la embriogénesis somática primaria y el promedio del número de embriones somáticos producidos, variaron considerablemente con el genotipo, el tipo de la auxina y su concentración. En la mayoría de los trabajos sobre embriogénesis somática en yuca, independientemente del tipo de explante utilizado, es la auxina 2,4-D el principal inductor del proceso embriogénico (Maillot *et al.* 2006), aunque se utilicen otros reguladores de crecimiento como

Picloram, Dicamba o Ácido Naftalen Acético. De manera similar, Ma & Xu (2002) demostraron que el 2,4-D es más eficiente en inducir la embriogénesis somática que el ANA, en el cultivo de hojas del cultivar de yuca 'Nanzhi 188'.

Por otro lado, en estudios realizados con ñame blanco fue eficiente el uso de Picloram a la concentración de 0,5 mg.L^{-1} para la inducción de callos embriogénicos a partir del cultivo de yemas axilares y el uso de ANA solo permitió la formación de callos traslúcidos con raíces y brotes adventicios (Manoharan *et al.* 2016). En nuestro experimento utilizando cultivo de yemas axilares fue más eficiente el uso del Picloram (8 mg.L^{-1}) que el 2,4-D en las concentraciones utilizadas.

En la **FIGURA 2** se puede observar los diferentes tipos de callos obtenidos por cultivo de yemas axilares en el clon PER-183. En la **FIGURA 2A**, se pueden observar callos embriogénicos friables (CEF) de color beige con ES en estado globular y con alto potencial de multiplicación, que inician su formación a partir de los 15 días de cultivo. En la **FIGURA 2B**, se observan CE compactos con ES globulares y con menor potencial de multiplicación que los friables. En la **FIGURA 2C**, se observan CE friables en diferentes etapas de crecimiento, desde la etapa globular hasta la de torpedo, formados entre las 4 y 6 semanas de cultivo. En la **FIGURA 2D**, algunos CE al inicio son de color beige y posteriormente se tornan de color ámbar y aspecto hiperhídrico, los cuales se forman a partir del día 10 de cultivo constituyendo callos no embriogénicos.

En la **FIGURA 3**, se observan callos embriogénicos (CE) de color ámbar y no embriogénicos (CNE) en el clon Cubana **(FIGURA 3A)**, así como embriones en forma de torpedo y cotiledonar **(FIGURA 3B)**, los cuales ya pueden ser separados del callo y cultivados en medio de germinación.

Para el caso del clon Criolla, se observan callos embriogénicos compactos y algunas áreas de crecimiento de color verde **(FIGURA 4A)**, así como callos con abundante formación de embriones globulares **(FIGURA 4B)**.

Beena *et al.* (2014) encontraron en algunos cultivares de yuca africanos e indios, que al cultivar hojas jóvenes de más de 6 mm y con más de 3 semanas de edad, el callo adquiría un aspecto hiperhídrico y posteriormente a los 15-20 días se tornaba marrón o ámbar y morían, mientras que en el cultivo de yemas axilares jóvenes alargadas se obtenían callos blanquecinos de apariencia algodonosa sobre los cuales aparecían los callos embriogénicos. En café se ha utilizado la coloración del callo como criterio de selección de embriogénicos y no embriogénicos; la coloración ámbar está relacionada con la potencialidad embriogénica y los de color amarillento, no embriogénicos (Quiroz *et al.* 2002).

Es importante resaltar que la aparición de células no embriogénicas en un callo embriogénico, puede estar relacionado con un efecto nodriza del suministro de factores de crecimiento, tales como glicoproteínas que son secretadas al medio de cultivo y que son utilizadas por las células embriogénicas (Quiroz-Figueroa *et al.* 2006).

CULTIVO DE ÁPICE CAULINAR DE LOS TRES CLONES SELECCIONADOS A PARTIR DE PLANTAS IN VITRO

En los **CUADROS 4A Y 4B** se puede observar que el clon PER-183, es el que presenta significativamente la mayor respuesta embriogénica al compararlo con los clones Criolla y Cubana. El número de CE y ES fue mayor en el tratamiento de 2,4-D 6 mg.L^{-1} para PER-183 (CE = 3,67 y ES = 82,00), seguido en significancia por el tratamiento con Picloram 4 mg.L^{-1} (CE = 3 y ES = 66,3).

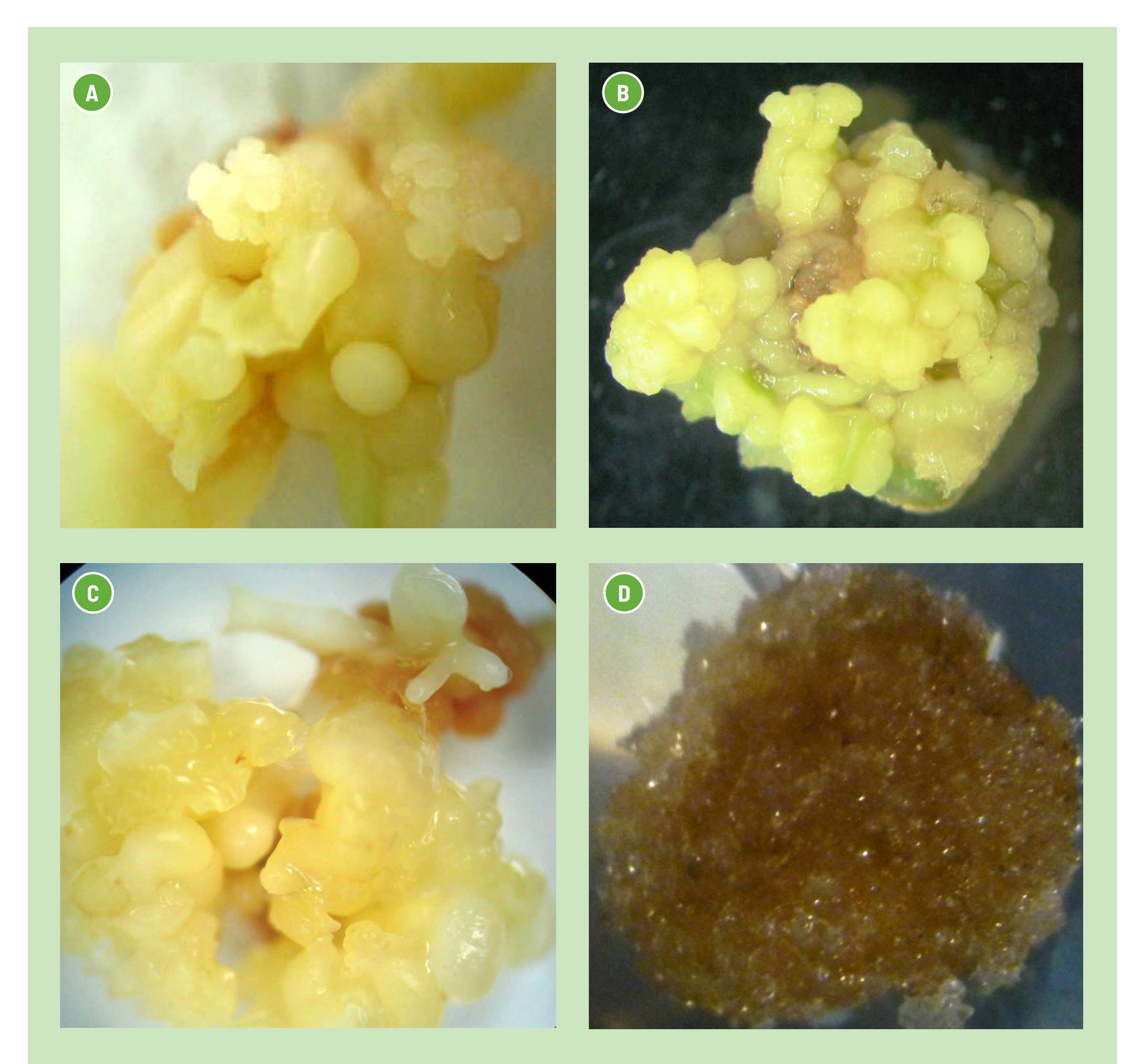


FIGURA 2. Diferentes tipos de callos obtenidos en cultivo de yemas axilares del clon PER-183. **(A)** Callo embriogénico friable (CEF) con gran cantidad de embriones globulares (10X), **(B)** CE compacto con ES globulares (10X), **(C)** CE friable en diferentes etapas de crecimiento desde globular hasta torpedo (10X), **(D)** callo no embriogénico necrosado e hiperhídrico.

En el clon Cubana se formaron CE y ES al emplear Picloram 4 $mg.L^{-1}$ (CE = 2,33 y ES = 32,67) y en 2,4-D 8 $mg.L^{-1}$ (CE = 2,67 y ES = 9,33).

En el clon Criolla, no hubo inducción embriogénica con 2,4-D, y una respuesta muy baja al emplear Picloram. Esta respuesta es contraria a la obtenida con el cultivo de yema axilar, por lo que se podría explicar como un efecto referido al tipo de explante utilizado y el genotipo sobre la respuesta embriogénica obtenida.

El 2,4-D en las cuatro dosis evaluadas indujo la formación de ES en el cultivo de yemas apicales

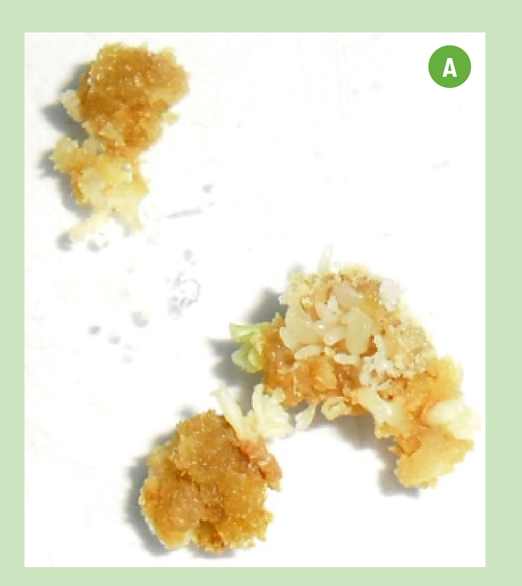




FIGURA 3. Callos embriogénicos obtenidos en cultivo de yemas axilares del clon Cubana. **(A)** Callo embriogénico (CE) de color ámbar con embriones somáticos en la etapa de torpedo y cotiledonar, así como callo no embriogénicas (CNE) (4X) y **(B)** embriones somáticos en etapa de torpedo (4X).





FIGURA 4. Se muestran **(A)** callos embriogénicos compactos y algunas áreas de crecimiento de color verde con embriones somáticos en el clon Criolla (4X) y **(B)** callo embriogénico con embriones somáticos globulares (10X).

del clon PER-183, observándose un aumento en el número de ES desde 4 mg.L^{-1}, con un máximo a 6 mg.L^{-1} y una disminución en dosis superiores de 2,4-D, lo que sugiere una posible inhibición.

En árboles adultos de *Eucalyptus globulus* Labill y el híbrido *E. saligna* Smith × *E. maidenii*, se indujo la embriogénesis somática a partir del cultivo de ápices del brote y explantes de hojas de los genotipos evaluados, obteniéndose frecuencias embriogénicas influenciadas significativamente por el tipo de especie, genotipo, auxina y tipo de explante. En este caso, el

CUADRO 4A. Valores promedios, de las variables número de callos embriogénicos obtenidos a partir del cultivo de yema apical.

CLON	REGULADOR DE CRECIMIENTO							
	2,4-D (mg.L^{-1})				Picloram (mg.L^{-1})			
	4	6	8	10	4	6	8	10
PER-183	3,00 A b	3,67 A a	3,00 A b	2,33 A b	3,00 A b	2,67 A b	2,67 A b	0,67 A c
Criolla	0,00 B b	0,00 B b	0,00 C b	0,00 B b	1,00 C a	0,33 B a	0,33 B a	0,67 A a
Cubana	0,00 B b	0,00 B b	2,67 A a	0,00 B b	2,33 B a	0,67 B b	0,33 B b	0,67 A b

DMS ponderado: 0,36, según prueba de Tukey a un nivel de p=0,05

CUADRO 4B. Valores promedios, de las variables número de embriones somáticos obtenidos a partir del cultivo de yema apical.

CLON	REGULADOR DE CRECIMIENTO							
	2,4-D (mg.L^{-1})				Picloram (mg.L^{-1})			
	4	6	8	10	4	6	8	10
PER-183	53,33 A c	82,00 A a	48,33 A d	53,00 A c	66,33 A b	8,00 A f	25,33 A e	0,67 A g
Criolla	0,00 B a	0,00 B a	0,00 C a	0,00 A a	1,67 C a	0,00 B a	0,33 B a	1,33 A a
Cubana	0,00 B d	0,00 B d	9,33 B b	0,00 A d	32,67 B a	0,67 B d	0,33 B	3,33 A c

DMS ponderado: 2,33, según prueba de Tukey a un nivel de p=0,05

Picloram fue el regulador de crecimiento más eficiente para la inducción de embriones somáticos en relación al ácido naftalen acético, con la más alta frecuencia de inducción en medio MS con 40 µM Picloram y 40 mg.L^{-1} de goma arábiga, donde 64 % de los explantes proveniente de brotes apicales y 68,8 % de los explantes provenientes de hoja, formaron embriones somáticos (Corredoira *et al.* 2015).

Los explantes mayormente usados en los experimentos de embriogénesis somática son hojas jóvenes, yemas axilares y con menor frecuencia yemas apicales o meristemas apicales; sin embargo, en yuca se lograron respuestas satisfactorias con hoja y yema apical (Opabode *et al.*, 2013). Medero *et al.* (2000) obtuvieron buenos resultados al cultivar meristemas apicales empleando 2,4-D y Picloram. Se ha determinado en algunos genotipos de yuca, que el uso de Dicamba (ácido 3,6-dicloro-2-metoxybenzoico), ha dado buenos resultados en comparación con la respuesta producida por el 2,4-D y Picloram (Ochoa *et al.* 2012).

Feitosa *et al.* (2007) indujeron embriogénesis somática en los genotipos de yuca "Agua Morna" y "Rosinha", a partir del cultivo de ápices agregándole Picloram. Se obtuvo una alta frecuencia de embriones somáticos y un gran número de embriones somáticos por explante.

CULTIVO DE HOJAS JÓVENES DE LOS TRES CLONES SELECCIONADOS A PARTIR DE PLANTAS *IN VITRO*

En los **CUADROS 5A Y 5B**, se señala el comportamiento promedio de las variables analizadas, considerando la significancia de la interacción (clon × regulador × dosis). La formación de CE y ES fue significativamente superior en el clon PER-183 en todos los tratamientos con reguladores de crecimiento seguido por el clon Criolla con 2,4-D 12 mg.L^{-1} y Cubana con 2,4-D 8 mg.L^{-1}.

CUADRO 5A. Número promedio de callos embriogénicos obtenidos a partir de hojas de los clones PER-183, Criolla y Cubana provenientes de plantas in vitro, evaluados a los 45 días de cultivo en diferentes concentraciones de 2,4-D y Picloram (T0= 0 mg.L^{-1}; T6= 6 mg.L^{-1}; T8= 8 mg.L^{-1}; T10= 10 mg.L^{-1}; T12= 12 mg.L^{-1}).

CLON	REGULADOR DE CRECIMIENTO									
	2,4-D (mg.L^{-1})					Picloram (mg.L^{-1})				
	4	6	8	10	12	4	6	8	10	12
PER-183	2.33 A c	3.33 A b	3.67 A b	4.33 A a	1.33 A e	1.00 A f	1.67 A d	3.00 A b	2.33 A c	0.33 A g
Criolla	0,00 B d	0.00 B d	0.33 B c	0.67 B b	1.33 A a	0.00 C d	0.00 C d	0.00 A d	0.67 B b	0.00 B d
Cubana	0,00 B d	0.00 B d	1.67 B a	0.00 B d	0.00 B d	0.67 B c	1.00 B b	0.00 A d	0.00 C d	0.00 B d

DMS ponderada: 0,32, según prueba de Tukey a un nivel de p=0,05

CUADRO 5B. Número promedio de embriones somáticos obtenidos a partir de hojas de los clones PER-183, Criolla y Cubana provenientes de plantas in vitro, evaluados a los 45 días de cultivo en diferentes concentraciones de 2,4-D y Picloram (T0= 0 mg.L^{-1}; T6= 6 mg.L^{-1}; T8= 8 mg.L^{-1}; T10= 10 mg.L^{-1}; T12 = 12 mg.L^{-1}).

CLON	REGULADOR DE CRECIMIENTO									
	2,4-D (mg.L^{-1})					Picloram (mg.L^{-1})				
	4	6	8	10	12	4	6	8	10	12
PER-183	60,00 A b	36,33 A d	12,33 B f	84,33 A a	6,67 B g	13,33 A f	50,67 A c	82,33 A a	30,00 A e	0,33 A h
Criolla	0,00 B b	0,00 B b	0,33 C b	1,00 B b	14,67 A a	0,00 B b	0,00 C b	0,00 B b	1,00 B b	0,00 A b
Cubana	0.00 B c	0.00 B c	18.00 A a	0.00 B c	0.00 C c	0,67 B c	5,33 B b	0,00 B c	0,00 B c	0,00 A c

DMS ponderada: 2,14, según prueba de Tukey a un nivel de p=0,05

Comparando el efecto de los reguladores de crecimiento, se observa la mayor formación significativa de ES en PER-183 con 2,4-D 10 mg.L^{-1} (84,33) y Picloram 8 mg.L^{-1} (82,33) y la más baja producción de ES se observó tanto con 2,4-D como Picloram 12 mg.L^{-1} (6,67 y 0,33) respectivamente. En el clon Criolla, se obtuvieron ES aunque en cantidades relativamente bajas al compararlas con PER-183 solamente en 2,4-D 12 mg.L^{-1} (14,67). Para el clon Cubana, se obtuvieron ES significativamente mayor en 2,4-D 8 mg.L^{-1} (18), seguido por Picloram 6 mg.L^{-1} (5,33); el resto de los tratamientos presentaron valores iguales o próximos a cero. Nuestros resultados concuerdan con los de Vidal *et al.* (2014), quienes obtuvieron mayores frecuencias de callos embriogénicos y número de ES utilizando Picloram 8 mg.L^{-1} al compararlo con los resultados obtenidos en 2,4-D en el cultivar Cigana Preta.

Los resultados obtenidos por Dhanya *et al.* (2017), confirman el efecto inductor del Picloram, ya que ellos produjeron callos embriogénicos estables y regenerables en cuatro cultivares indígenas de yuca: H226, H165, Sree Vijaya y Sree Sahya. Todos los cultivares produjeron de moderadas a óptimas estructuras embriogénicas organizadas (EEO) cuando los explantes de yemas axilares y hojas jóvenes se cultivaron en medio MS con Picloram 12 mg.L^{-1} y las más altas frecuencias de inducción de EEO fueron de 97.49 % y 95.64 % en H226 y H165, respectivamente con cultivo de hojas jóvenes.

En el cultivo de hojas realizado en medio semisólido, se observaron las siguientes características o estructuras del clon PER-183 ***(FIGURA 5)***

Criolla ***(FIGURA 6)*** y Cubana ***(FIGURA 7)***. En la Figura 5, se observan las diferentes etapas de inducción del callo embriogénico primario desde el explante en el día 0 ***(FIGURA 5A)***, inicio de la formación de callos embriogénicos a las 2 o 3 semanas ***(FIGURA 5B)***, callos embriogénicos de alta frecuencia (CEAF) con gran cantidad de ES en estado globular (5C), hasta la formación de ES en estado cotiledonar y torpedo a los 45 días (5D). En la ***FIGURA 6*** se aprecia que el callo se formó en la

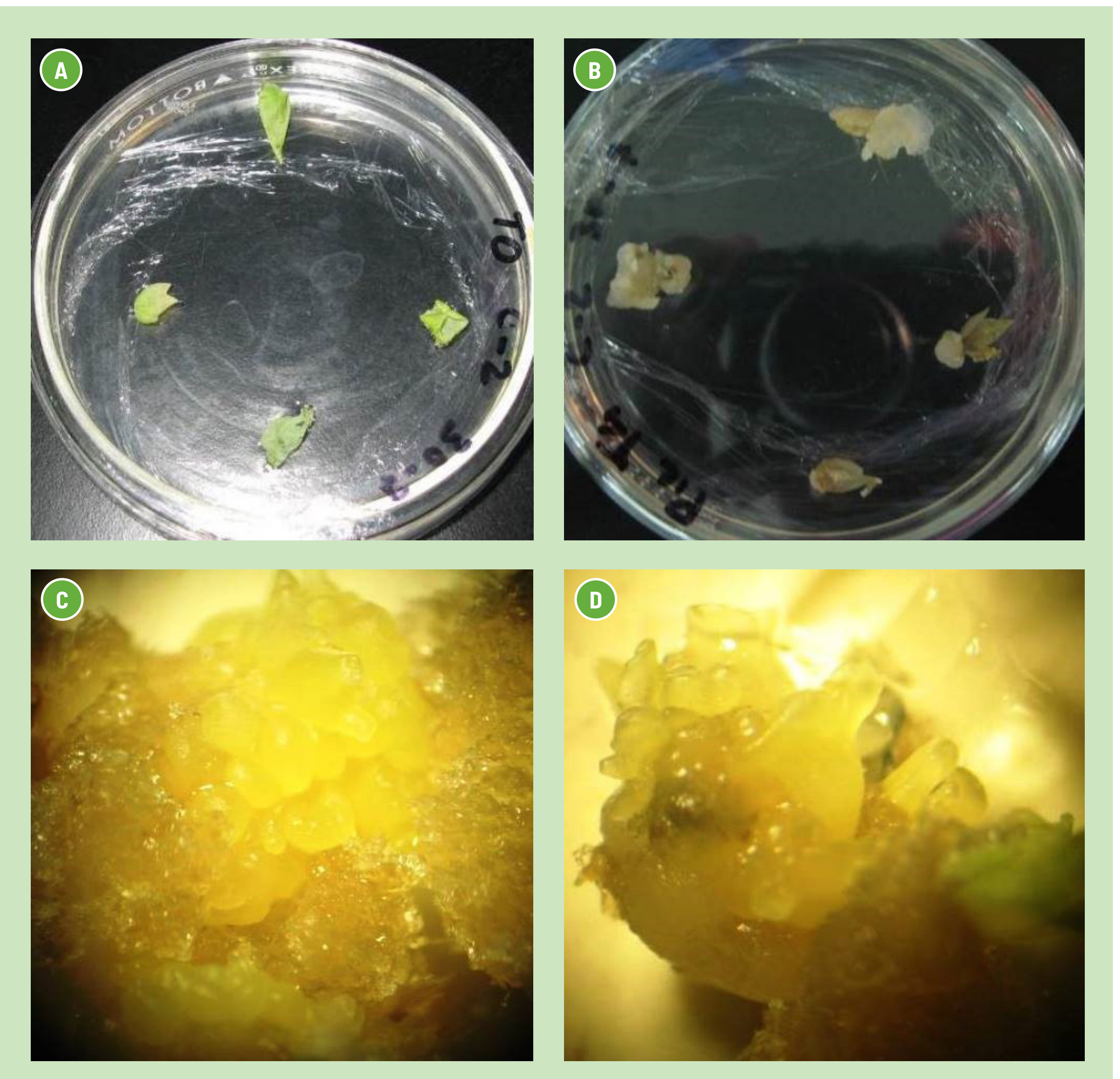


FIGURA 5. Formación de callos embriogénicos y embriones somáticos en cultivo de hojas del clon PER-183. **(A)** Explante de hoja extraída de la vitroplanta a tiempo cero (4X), **(B)** explantes de hoja con inicio de la formación del callo embriogénico (4X), **(C)** callo embriogénico de alta frecuencia con la formación de embriones somáticos globulares (10X) y **(D)** callo friable con ES en estado globular y torpedo a los 45 días (10X).

cara abaxial de la hoja, luego continuó creciendo a lo largo del nervio medio ***(FIGURA 6A)***. En los tres clones ocurrió el mismo comportamiento. En la ***FIGURA 6B*** (clon Criolla) se puede observar la germinación de los embriones somáticos y conversión de plantas ***(FIGURA 6C Y D)***. Sin embargo, en algunos CE los embriones somáticos germinaron formando estructuras foliosas o brotes con escasa formación de raíz ***(FIGURAS 7A Y B)***. Esta situación se presentó en los tres clones evaluados.

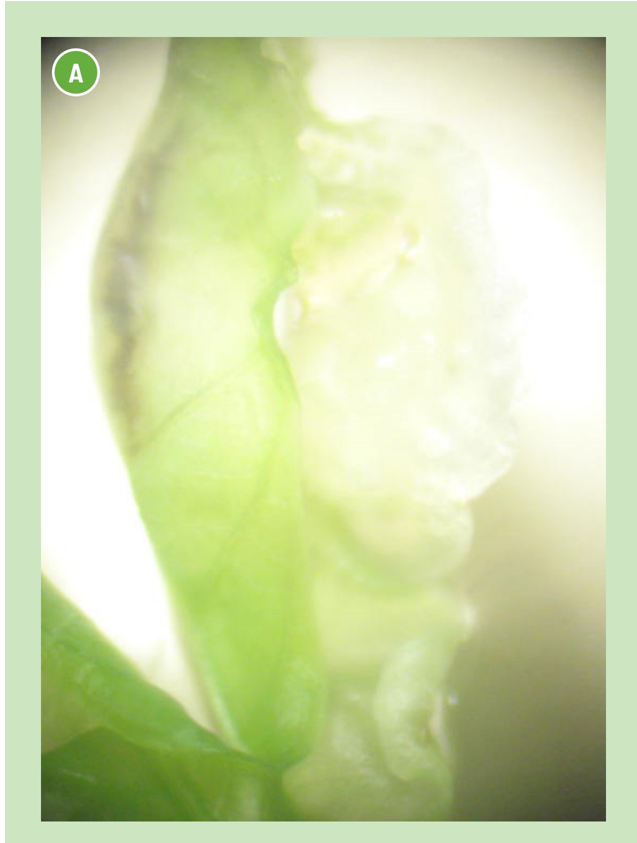








FIGURA 6. Formación de callos embriogénicos y embriones somáticos en cultivo de hojas del clon Criolla. **(A)** Explante de hoja donde se observa hacia la parte basal y asociado al nervio medio el inicio de la formación de un callo (10X), en **(B)** y **(C)** se observan la germinación de ES (4X) y **(D)** conversión de plantas (4X).



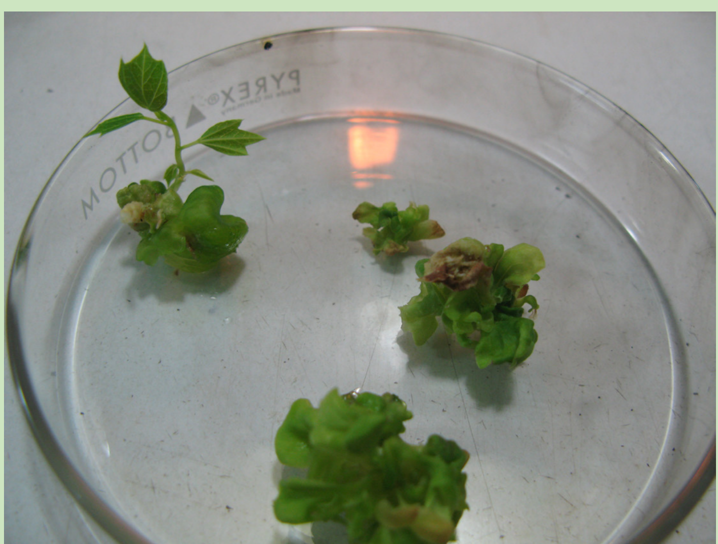


FIGURA 7. **(A)** Formación de brotes con escasa formación de raíces a partir del callo embriogénico (4X), **(B)** brotes con estructuras foliares en el clon Cubana (4X).

FIGURA 8. Representación de la asociación entre clones, medio de cultivo, dosis y variables seleccionadas.

Como lo demuestran los resultados, la posición del explante fue un factor importante para inducir callos embriogénicos en los clones de yuca utilizados. Ibrahim *et al.* (2008) obtuvieron respuesta embriogénica al cultivar la parte abaxial de hojas de yuca en contacto con el medio de cultivo. Contrario a lo expresado anteriormente, Beena *et al.* (2014) determinaron que, en los genotipos evaluados, la posición de la hoja (abaxial o adaxial) en contacto con el medio de cultivo, no afectaba la embriogénesis somática.

Es importante resaltar que los mejores resultados se obtuvieron con el clon PER-183, independientemente del tipo de explante utilizado, evidenciándose un efecto del genotipo. En diversas investigaciones, al utilizar hojas jóvenes, siempre se han obtenido ES en muchos genotipos de yuca americanos, asiáticos y africanos; sin embargo, las respuestas difieren entre genotipos (Opabode *et al.* 2013). Ubalua & Mbanaso (2014) indujeron embriogénesis somática a partir de hojas jóvenes de vitroplantas de dos cultivares nigerianos: “Sandpaper” y “TMS-60444”, utilizando el medio de cultivo DKW (Driver & Kuniyuki 1984), Picloram como regulador de crecimiento y condiciones de baja iluminación, obteniendo CEF asociados al genotipo. Opabode *et al.* (2017), obtuvieron mayores frecuencias de ES (42.7– 49.2%) y mayor número de ES por explante (9.5–15.2) utilizando lóbulos foliares, comparado con los reportados por otros autores.

Algunos genotipos ofrecen características resaltantes como el PER-183, híbrido seleccionado en los valles interandinos de Colombia por su alto rendimiento y características culinarias (Ceballos, *et al.*, 2002), y también por su tolerancia a la enfermedad viral “Cuero de sapo” (Álvarez *et al.* 2015), enfermedad que ingresó en el país desde el año 2001, según reportes de Chaparro-Martínez y Trujillo-Pinto (2001).

Se ha demostrado que, en la embriogénesis somática de muchas especies, la auxina activa genes que actúan sobre la expresión de las células competentes a los pocos minutos de contacto con la hormona (Hagen & Guilfoyle 2002) y se ha determinado igualmente, que compuestos unidos fuertemente o no a la pared celular tales como los oligosacáridos, influyen en la respuesta embriogénica (Quiroz-Figueroa *et al.* 2006). Los niveles de reguladores de crecimiento internos y externos, factores de estrés (shock osmótico, deshidratación del medio de cultivo, estrés hídrico, iones de metales pesados, alteración del pH del medio de cultivo, antibióticos), están igualmente involucrados (Zavattieri *et al.* 2010). De allí, que las señales que inducen la competencia y activan el desarrollo embriogénico no son fáciles de separar. La competencia está asociada con la desdiferenciación de la célula somática, que les permite luego responder a una nueva señal de desarrollo.

Es posible que, en el caso de los Clones Criolla y Cubana, la expresión genética mencionada está regulada por algún tipo de proteína que actúa sobre la inducción embriogénica y la activación de compuestos proteicos relacionados con la pared celular. Se debe considerar, además el uso de otras auxinas, con la finalidad de mejorar su respuesta embriogénica.

El uso del pre-cultivo a un tercio de la concentración de las sales minerales (MS/3) y sacarosa (45 $g.L^{-1}$) durante una semana, fue probablemente eficiente como factor de estrés para inducir la embriogénesis somática en diferentes explantes de yuca, particularmente en el Clon PER-183.

Como resumen del proceso de propagación por embriogénesis somática primaria, podemos observar en la Figura 8, que el análisis de componentes principales (CP) permitió separar los clones y el medio regulador en dos grupos bien definidos. El CP1 contribuyó a explicar el 60,1% de la variabilidad total observada, con mayor respuesta proveniente del número de callos embriogénicos formados en hoja y número de embriones somáticos en yema axilar de la posición 4. El CP2 contribuyó a explicar el 19,3% de la variabilidad observada, con mayor aporte de las variables: número de callos embriogénicos formados en yema apical y número de embriones somáticos formados en yema apical. El clon PER-183 presentó la mayor frecuencia de ES y número de ES en estado globular al compararlo con el resto de los genotipos.

La metodología de propagación *in vitro* a través de la inducción de embriogénesis somática fue eficiente en el sentido de producción de vitroplantas sanas y vigorosas, para ser entregadas a los productores de yuca del país. El clon PER-183 se puede entregar a productores de yuca como una alternativa, en los estados donde se ha diagnosticado la presencia del virus "cuero de sapo" como son los estados Bolívar y Anzoátegui.

YA-NES: número de embriones somáticos formados en yema apical; YA,_NCEmb: número de callos embriogénicos formados en yema apical; Hoja_NCEmb: número de callos embriogénicos formados en hoja; Hoja_NES: número de embriones somáticos formados en hoja;Y4_NCEmb: Número de callos embriogénicos en yema axilar de la posición 4;Y4_NES: Número de embriones somáticos en yema axilar de la posición 4; Y3_NES: número de embriones somáticos en yema axilar de la posición 3; Y3_NCEmb: número de callos embriogénicos en yema axilar de la posición 3.

En cuanto a los clones locales como son Criolla y Cubana, de forma similar pueden ser ofrecidos a las localidades productoras del estado Aragua, Cojedes, Portuguesa y Anzoátegui, donde es necesario el suministro de "semilla" de yuca de buena calidad que contribuya al aumento de producción.

Esta vía de propagación puede ser el punto de partida para proponer un programa de mejoramiento genético por biotecnología, que involucre la búsqueda de rasgos de selección de interés agrícola como tolerancia a estrés biótico y abiótico, mayor contenido de almidón, raíces menos perecederas en postcosecha y obtención de plantas haploides. Las técnicas utilizadas podrían ser la variación somaclonal, la inducción de mutaciones y el cultivo de anteras. Los embriones somáticos y suspensiones celulares, son potencialmente factibles para tales propósitos, una vez obtenido el protocolo de regeneración de plantas.

Se podrían realizar ciclos repetitivos de embriogénesis somática partiendo de los CEF para aumentar el número de plantas obtenidas, evaluando la estabilidad genética. Igualmente, se puede complementar la propagación de las plantas obtenidas mediante embriogénesis somática a través del cultivo de microestacas, tanto en medio de cultivo semisólido como en sistemas de inmersión temporal y de esta manera, contribuir con la demanda de "semilla" de calidad por parte de los productores.

CONCLUSIONES

La inducción de la embriogénesis somática en los clones PER-183, Cubana y Criolla fue indirecta y estuvo influenciada por el tipo de auxina exógena utilizada, el tipo de explante y

el genotipo. El número de callos embriogénicos y embriones somáticos fue significativamente superior en el clon PER-183 independientemente del explante utilizado. Para la yema axilar de la posición 4, la mejor respuesta se obtuvo con Picloram 8 $mg.L^{-1}$, en yema apical con 2,4-D 6 $mg.L^{-1}$ y para hoja 8 y 10 $mg.L^{-1}$ de 2,4-D y Picloram respectivamente. Seguidamente, pero con menor respuesta, se observó que en el clon Cubana la mejor respuesta embriogénica se obtuvo al cultivar la yema apical con Picloram 4 $mg.L^{-1}$ y para el clon Criolla, la yema axilar de la posición 4 en 2,4-D 6 $mg.L^{-1}$, donde los embriones somáticos obtenidos presentaron potencialidad de regenerar plantas normales en los tres genotipos estudiados.

Considerando la importancia tradicional del cultivo de la yuca y su escaso desarrollo en Venezuela, el uso de la biotecnología para la propagación masiva de clones impactaría en la producción de "semilla" sana y libre de las principales enfermedades que atacan al cultivo.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Atehnkeng, J.; Adetimirin, V. & Ng, SYG. 2006. Exploring the African cassava (*Manihot esculenta* Crantz) germplasm for somatic embryogenic competence. *African Journal of Biotechnology*. 5(14): 1324-1329.

Álvarez, Elizabeth; Pardo, Juan Manuel; Mejía, Juan Fernando; Santos de Oliveira, Saulo Alves; Zacher, Marta; Cardozo, Lourdes; Gómez, Yannery. 2015. Manejo del 'cuero de sapo', enfermedad limitante de la yuca. Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT), Cali, Colombia. 12 p. (Publicación CIAT No. 405). Recuperado de: http://hdl.handle.net/10568/70086

Beena, M.; Winter, S.; Makeshkumar, T. 2014. Influence of Age of Explants and Genotype on Somatic Embryogenesis in African and Indian Cassava Cultivars. Journal of Root Crops, Vol. 40 No. 2, pp. 21-27. Disponible en: http://www.isrc.in/ojs/index.php/jrc/article/view/161

Carvajal-Yepes, M., Olaya, C., Lozano, I., Cuervo, M., Castano, M., & Cuellar, W. J. 2014. Unraveling complex viral infections in cassava (*Manihot esculenta* Crantz) from Colombia. *Virus Research*, 186, 76-86.

CIAT (Centro Internacional de Agricultura Tropical). 2006. Breeding for disease resistance and development of alternative methods for their control. Project IP-3: Improving cassava for the developing world, Annual report 2006. Cap. 11. Consultado el 27 de marzo, 2009. Disponible en: www.ciat.cgiar.org/beans/pdfs/report_2006/contents.pdf

Chaparro-Martinez, E. I., & Trujillo-Pinto, G. 2001. First report of frog skin disease in cassava (*Manihot esculenta*) in Venezuela. *Plant Disease*, 85(12), 1285-1285.

Ceballos, H. 2002. La yuca en Colombia y el mundo: Nuevas perspectivas para un cultivo milenario. En: La yuca en el tercer milenio. Sistemas modernos de producción, procesamiento, utilización y comercialización. Ospina, B.; Ceballos, H.

(eds). Centro Internacional de Agricultura Tropical, Cali, Colombia. Cap. 21. 13 p.

Corredoira, E., Ballester, A., Ibarra, M., & Vieitez, A. M. 2015. Induction of somatic embryogenesis in explants of shoot cultures established from adult *Eucalyptus globulus* and E. saligna× E. maidenii trees. *Tree Physiology*, 35(6): 678-690.

Dhanya, J.; Leen, N.A.; Deepthi D. C.; Moushmi, M.; Beena, M. R.; Sheela, M. N.; Makeshkumar, T. 2017. Comparative Potential of Somatic Embryogenesis and Friable Embryogenic Callus Production in Farmer Preferred Indian Cassava Cultivars. *Journal of Root Crops*, Vol. 43 (1): 23-33.

Douglas, G. C. 1984. Formation of adventitious buds in stem internodes of *Populus* spp. cultured in vitro on basal medium: influence of endogenous properties of explants. *Journal of Plant Physiology*, 116(4), 313-321.

Driver, J. A. y A. H. kuniyuki. 1984. *In vitro* propagation of paradrox walnut rootstock. *Hortsci.* 19: 507-509.

FEDEAGRO. 2016. Estadísticas agropecuarias. Consultado el 4 de marzo de 2016. Disponible en: http://www.fedeagro.org

Feitosa, T.; Pinheiro, J.; Ferreira, L.; Lustosa, T.; De Paiva, F. 2007. Somatic Embryogenesis in Cassava Genotypes from the Northeast of Brazil. *Brazilian archives of Biology and Technology. An International Journal.* 60 (2): 201-206.

Fregene, M. & Puonti-Kaerlas, J. 2002. Cassava Biotechnology. En: Cassava Biology, Production and Utilization. Hillocks, R.; Thresh, J.; Belotti, A. (eds). CABI publishing. UK. Cap. 10. 29 p.

Hagen, G. & Guilfoyle, T.; 2002. Auxin-responsive gene expresión: genes, promoters and regulatory factors. *Plant Molecular Biology* 49: 373-385.

Ibrahim, A.; Heredia, F.; Pinheiro, C.; Aragao, F.; Campos, F. 2008. Optimization of somatic embryogenesis and selection regimes for particle bombardment of friable embryogenic callus and somatic cotyledons of cassava. *African Journal of Biotechnology.* 7 (16): 2790-2797.

Ma, G. & Xu, Q. 2002. Induction of somatic embryogenesis and adventitious shoots from immature leaves of cassava. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture.* 70 (3): 281-288.

Maillot, P., Walter, B., Kieffer, F. 2006. Somatic embryogenesis from stem nodal sections of grapevine. Vitis: *Journal of Grapevine Research*, 45(4): 185-189.

Manoharan, R., Tripathi, J. N., & Tripathi, L. 2016. Plant regeneration from axillary bud derived callus in white yam (*Dioscorea rotundata*). *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 126 (3): 481-497.

Marín, A., Perdomo, D., Albarrán, J. G., Fuenmayor, F., & Zambrano, C. 2008. Evaluación agronómica, morfológica y bioquímica de clones élites de yuca a partir de vitroplantas. *Interciencia,* 33(5), 365-371.

Murashige.T. y F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco cultures. *Phisiologia Plantarum* 15: 473-497.

Medero, V.; Borroto, C.; Rodríguez, S.; Gómez, R.; López, J.; García, M.; Ventura, J.; Espinosa, L.; Cabrera, M.; Martínez, M.; Torres, M.; Torres, Y.; Alvarez, M.; García, J. 2000. Embriogénesis somática a partir de meristemos axilares en yuca. *Biotecnologia Vegetal.* 1: 21-26.

Mongomake, K., Doungous, O., Khatabi, B., & Fondong, V. N. 2015. Somatic embryogenesis and plant regeneration of cassava (*Manihot esculenta* Crantz) landraces from Cameroon. *SpringerPlus*, 4(1): 1.

Ochoa, J.; Chavarriaga, P.; López, C. 2012. Embriogénesis somática y producción de callo embriogénico friable de dos clones de yuca (*Manihot esculenta* Crantz). *Revista Colombiana de Biotecnología.* 14 (2): 20-27. Consultado el 02 de noviembe de 2013 Disponible en: http://www.revistas.unal.edu.co/index.php/biotecnologia/article/view/37222/40404.

Opabode, J.; Oyelakin, O.; Akinyemiju, O.; Ingelbrecht, I. 2013. Primay somatic embryos from axilary meristems and immature leaf lobes of selected African Cassava varieties. *British Biotechnology Journal.* 3(3): 263-273.

Opabode, J. T.; Akinyemiju, O. A. 2017. Somatic embryogenesis and regeneration of five multipurpose cassava landraces extensively integrated in African cropping system. *Journal of Crop Improvement*, 31(1): 56-71.

Pitekelabou, R., Aidam, A. V., & Kokou, K. 2015. *In vitro* micropropagation of *Nauclea diderrichii* (de wild &t. Durand) Merrill: effect of nodes position on plantlets growth and rooting. *European Scientific Journal*, 11(21).

Quiroz-Figueroa, F.R., R. Rojas-Herrera, R.M. Galaz-Avalos & V.M. Loyola-Vargas 2006. Embryo production through somatic embriogénesis can be used to study cell differentiation in plants. *Plant Cell Tissue and Organ Culture* 86: 285-301.

Quiroz-Figueroa, F.; Méndez-Zeel, M.; Sánchez-Teyer, F.; Rojas-Herrera, R.; Loyola-Vargas, V. 2002. Differential gene expression in embryogenic and non-embryogenic clusters from cell suspension cultures of Coffea Arabica. *Journal of Plant Physiology*, 159. 1267-1270.

Ravindran, B. M., Winter, S., & Thangaraj, M. 2014. Influence of Age of Explants and Genotype on Somatic Embryogenesis in African and Indian Cassava Cultivars. *Journal of Root Crops*, 40 (2), 21-27.

Ubalua, A. y Mbanaso, E. 2014. Somatic embryogenesis in two Nigerian Cassava cultivars (Sandpaper y TMS-60444). *Journal of Evolutionary Biology Research.* 6 (3): 9-12.

Vidal, Á.; Costa, M.; Souza, A.; Almeida, W.; Souza, F. 2014. *In vitro* regeneration and morphogenesis of somatic embryos of cassava. *Revista Ciência Agronômica,* 45(3): 558-565.

Zavattieri, M. A., Frederico, A. M., Lima, M., Sabino, R., & Arnholdt-Schmitt, B. 2010. Induction of somatic embryogenesis as an example of stress-related plant reactions. *Electronic Journal of Biotechnology*, 13(1), 12-13.

ISSN(e) 2244-8888

Pittieria
42
ENERO-DICIEMBRE 2018
págs. 52-72

Análisis de crecimiento de plántulas de caoba (*Swietenia macrophylla* King) en tratamientos con auxinas y giberelinas bajo condiciones de vivero

Analysis of mahogany's (*Swietenia macrophylla* King) plantules growth through treatments with auxins and gibberellins under conditions of tree nursery

por

CESAR VALE-MONTILLA

Universidad de Los Andes, Núcleo Universitario Rafael Rangel, Centro de Investigaciones Agrícolas, Biológicas, Educativas y Sociales (CIABES), Apartado Postal 3150. Trujillo, Venezuela. **cvale@ula.ve, cesarva2003@gmail.com**

RECIBIDO: mayo 16 de 2018 / **ACEPTADO:** octubre 26 de 2018

RESUMEN

El análisis de la calidad de planta forestal en vivero requiere la medición constante de variables de crecimiento, que pueden resultar afectadas por los tratamientos aplicados. Por esta razón, el objetivo fue evaluar el efecto de dos reguladores de crecimiento sobre el crecimiento de caoba (*Swietenia macrophylla* King), éstos fueron ProGibb® (ácido giberélico 10% p/p e ingredientes inertes 90% p/p) y GiberGrop® (ácido alfanaftalenacético 17,2% y giberelina 10% p/p), utilizando un diseño completamente aleatorizado con 5 tratamientos: ProGibb® a 200, 400 y 800 mg/L, GiberGrop® a 600 mg/L y sólo con agua corriente. En muestreos cada 30 días se evaluó área foliar y peso seco total, para calcular algunos índices de crecimiento (IAF, RAF, TCR, TCC y TAN). El área foliar fue ascendente entre el primer y tercer muestreo, donde alcanza el máximo valor. El peso seco total también resultó ascendente entre el primer y cuarto muestreo. GiberGrop® presentó los mayores valores de área foliar, peso seco, IAF y RAF. Posterior a la primera evaluación, la RAF presentó decrecimiento progresivo en todos los tratamientos. El mayor valor de IAF ocurrió en el cuarto muestreo. El tratamiento con ProGibb® a 400 mg/L fue el único tratamiento que presentó un aumento gradual y progresivo para los índices TAN, TCR y TCC, lo que indica que con el trascurrir del tiempo mejora la eficiencia fotosintética y la elaboración de nuevo material por unidad de superficie de suelo y por unidad de tiempo.

PALABRAS CLAVE: *Swietenia macrophylla*, auxinas, giberelinas, índices de crecimiento.

ABSTRACT

The analysis of quality of forest plants in tree nursery requires a constant measurement of variable growth, which could be affected by applied treatment. For this reason, the objective of this study was to evaluate the effect of two regulator of growth ProGibb® (Gibberellic Acid 10% w/w and inert ingredients 90% w/w) and GiberGrop® (1 – Naphthalenecetic Acid 17,2% and Gibberellins 10% w/w) on the growth mahogany (*Swietenia macrophylla* King), using a completely randomized desing of 5 treatments scattered: ProGibb® to 200, 400 and 800 mg/L, GiberGrop® to 600 mg/L and only with water. In samplings taken every 30 days, foliage area and dry total weight were evaluated, to calculate some indexes of growth (LAI, LAR, RGR, CGR, and NAR). The foliage area was ascending between the first and third sampling process, where it reaches its highest values. The dry total weigh was also ascending between the first and fourth sampling. GiberGrop® produced the major values of foliage area dry weight LAI and LAR. After the first evaluation, the LAR evidence progressive decrease in all treatments. The major value of LAI of LAI occurred in the fourth sampling. The treatment with ProGibb® to 400 mg/L was the only treatment that presented a gradual and progressive increase for the indexes NAR, RGR and CGR, which indicates that as time goes by, the photosynthetic efficiency and the elaboration of new material improve by unit of soil and by unit of time.

KEY WORDS: *Swietenia macrophylla*, auxinas, giberelinas, índices de crecimiento.

INTRODUCCIÓN

La síntesis continua de sustancias, desde pequeñas moléculas hasta grandes y complejas estructuras, constituye el crecimiento. Se le puede definir como el aumento de protoplasma o el incremento en peso seco o volumen irreversible que ocurre en un órgano o en la planta completa (Montaldi 1995). El patrón de crecimiento de una generación se describe por medio de la curva sigmoide, que resulta de las tasas de crecimiento diferenciales durante su ciclo de vida (Hunt 1990).

El análisis de crecimiento es una aproximación cuantitativa para entender el crecimiento de una planta o de una población de plantas bajo condiciones ambientales naturales o controladas. Es una técnica que utiliza modelos matemáticos para cuantificar la relación existente entre el crecimiento de una planta, la producción de materia seca y la expansión de área foliar, entre estos factores y una condición ambiental como la luz, el agua o los nutrientes (Clavijo 1989). El análisis de crecimiento tiene la gran ventaja de proveer medidas precisas del funcionamiento de la planta a través de intervalos de tiempo (Hunt 1990).

La absorción de luz incidente sobre un cultivo depende de la amplitud de su superficie foliar. Una medida que expresa la capacidad de la estructura para interceptar la radiación solar es el índice de área foliar (IAF). Este índice representa la suma de la totalidad de las superficies de las hojas existentes en un área de suelo, expresadas ambas en las mismas unidades. Los cultivos de especies diferentes absorben distintas cantidades de fotones, aun con el mismo IAF. Este comportamiento se debe a la orientación de las hojas en el espacio (Montaldi 1995).

Además del IAF, resulta útil considerar la disposición de las hojas en el dosel. Si todas las hojas están en posición horizontal, las hojas de la porción superior estarán expuestas a plena insolación y la fotosíntesis en estas hojas será sobresaturada, por lo que gran parte de la luz se desperdiciaría. Si las hojas se orientan en posición más o menos vertical, los rayos de luz serán más o menos paralelos a las superficies foliares, por lo que casi ninguna hoja se encontraría por encima del nivel de saturación (Salisbury & Ross 1994).

El análisis matemático de crecimiento usa medidas directas, tales como Peso Seco (PS), Área Foliar Total (AF) y Tiempo (T), mientras que las medidas derivadas Tasa Relativa de Crecimiento (TRC), Tasa de Crecimiento del Cultivo (TCC), Relación de Área Foliar (RAF), Tasa de Asimilación Neta (TAN) e Índice de Área Foliar (IAF) son calculadas a partir de las medidas directas (Hunt 1978).

El Índice de Área Foliar (IAF) representa la relación entre el área foliar o superficie fotosintetizadora y el área de suelo ocupada por el cultivo y la Relación de Área Foliar (RAF) es definida como la relación entre el área foliar total y el peso seco total. Otros índices que permiten evaluar la eficiencia de la planta, es la Tasa Relativa de Crecimiento (TRC), denominado el índice de eficiencia de producción de materia seca, la Tasa de Asimilación Neta (TAN) que es un indicador de la eficiencia fotosintética promedio, ya que mide la ganancia neta de asimilados por unidad de área foliar y por unidad de tiempo, y la Tasa de Crecimiento del Cultivo (TCC) que es considerado un índice de la productividad agrícola, que mide la ganancia en peso de una comunidad de plantas por unidad de área de suelo y por unidad de tiempo (Hunt 1978; Gardner *et al.* 1985; Clavijo 1989).

Una de las funciones más importantes de las giberelinas es la promoción del crecimiento del tallo, esto se debe a la inducción de la división celular en el meristemo subapical; su aplicación incrementa el tamaño de la zona meristemática al aumentar el número de células que entran en división celular. Estas células contribuyen posteriormente a la elongación del tallo, crecimiento de hojas y raíces. En la germinación de la semilla, las primeras hormonas que actúan son las giberelinas. El ácido giberélico (GA_3) activa el crecimiento vegetativo del embrión durante la germinación y promueve la producción o secreción de enzimas hidrolíticas principalmente α-amilasa, enzima involucrada en la solubilización de las reservas del endospermo. Las auxinas están implicadas en muchos procesos del desarrollo vegetal porque afectan la división, el crecimiento y la diferenciación de las células. Los efectos son producidos en el alargamiento de raíz y tallo. Además de esta acción sobre el crecimiento, las auxinas influyen de forma decisiva en procesos como la división celular del cambium, la diferenciación vascular, la formación de raíces adventicias, la dominancia apical y el desarrollo de los frutos (Salisbury & Ross 1994; Taiz & Zeiger 2002; Azcón & Talón 2013).

Las hormonas se han utilizado en plantas de caoba (*Swietenia macrophylla* King) de diferentes maneras. Por ejemplo, Acosta *et al.* (2012) utilizó semillas de caoba en tratamientos de inmersión con ácido giberélico en concentración de 3 ppm durante 24 horas, consiguieron un 92 % de germinación. Gárate (2010) siguiendo un protocolo de Soudre *et al.* (2010), acerca de las diversas técnicas de propagación vegetativa por estacas de especies arbóreas de la amazonia peruana, entre ellas *Swietenia macrophylla* King, alcanzaron 96% de enraizamiento utilizando estacas juveniles de sección media y basal, de 4,5 cm de longitud, con área foliar de 50 cm^2 (un folíolo), y con 8000 ppm de AIB, iniciando el enraizamiento a casi 30 días de instaladas en la cámara de sub-irrigación. Este resultado se contradice con Sánchez (2011), quien para la misma especie y en cámara de sub-irrigación, para determinar el tamaño adecuado de estaca (5,8 y 11 cm) y la dosis óptima de AIB (0, 500, 1000 y 1500 ppm) para el enraizamiento, al evaluar sobrevivencia, formación de callos, número, longitud y diámetro de raíz, porcentaje de sobrevivencia y enraizamiento, encuentran que la dosis de 1000 ppm de AIB fue la que promovió un mayor porcentaje de enraizamiento (21,4 %), aunque el tamaño de estaca no mostro diferencia estadística significativa para ninguna de las variables evaluadas.

Marturet *et al.* (2016) se plantearon el establecimiento de un protocolo de morfogénesis *in vitro* a partir de tallos e hipocótilos cultivados *in vitro*, y tallos y yemas axilares provenientes de plántulas de caoba cultivadas en invernadero, evaluando la combinación de dos auxinas: ANA y 2,4-D y dos citocininas: BAP y TDZ, los resultados obtenidos abren la posibilidad de iniciar un proceso de propagación de caoba vía embriogénesis somática debido a la formación de callos.

En otras etapas del desarrollo de plantas arbustivas y maderables, se han utilizado hormonas. Es así como, Amador *et al.* (2013) analizaron el efecto de diferentes concentraciones de AIA, ANA y GA_3, sobre la germinación de semillas y crecimiento de dos especies de cactáceas globosas: *Ferocactus latispinus* y *F. histrix*, con la finalidad de investigar si la aplicación de éstas hormonas promueve la velocidad de germinación de semillas, así como influir en un mayor desarrollo y crecimiento de las plántulas. En

Cordia elaeagnoides A. DC., la germinación se favorece con períodos de inmersión de la semilla en ácido giberélico (GA_3) por 24 h (Santacruz *et al.* 2014).

Debido a la falta de estudios de análisis de crecimiento en caoba utilizando hormonas vegetales, se realizó esta investigación con el objeto de determinar el efecto de las hormonas en algunos índices de crecimiento de las plantas (IAF, RAF, TCR, TCC y TAN), para aportar un mayor conocimiento en esta especie de interés económico en el país, por la alta calidad de su madera.

MATERIALES Y MÉTODOS

1. UBICACIÓN Y DESCRIPCIÓN DEL ÁREA DE ESTUDIO

El trabajo se realizó entre los meses de junio y noviembre de 2016, en un vivero no permanente, constituido para realizar análisis de crecimiento de algunas especies de importancia forestal, ubicado en el sector La Raya de la ciudad de Trujillo, Venezuela. El sector está ubicado entre las coordenadas geográficas: latitud Norte 09° 12' 26" – 09° 27' 29", longitud Oeste 70° 33' 59" – 70° 16' 53. El patrón de temperaturas regente en el área, es de tipo megatérmico (media anual > 25 °C), y el régimen de lluvias corresponde al bimodal, propio de la cuenca del lago de Maracaibo, con dos picos anuales de precipitación (mayo y octubre). La precipitación anual es de 1.386 mm. El municipio Trujillo, se encuentra en un rango altitudinal entre 475 y 1225 msnm (Roa & Kamp 2012).

2. PROCESO METODOLÓGICO

2.1. Diseño experimental

El experimento fue evaluado mediante un diseño completamente aleatorizado. Los tratamientos fueron a base de agua, ProGibb® en concentraciones de 200, 400 y 800 mg/L (20, 40 u 80 mg de ingrediente activo por litro) y Giber-Grop® a 600 mg/L (60 mg de ingrediente activo de GA_3 y 102,2 mg de ingrediente activo por litro de *ácido alfanaftalenacético,* colocadas en forma de aspersión en la parte aérea de las plantas de caoba (*Swietenia macrophylla* King), además de un tratamiento de aspersión de plantas solo con agua corriente, para cinco tratamientos y cuatro aspersiones, cada una con frecuencia semanal, la primera realizada al cumplir cuarenta y cinco días después de la siembra de la semilla (dds) y luego cada 7 días. Para el análisis de crecimiento, se utilizaron 03 plantas por tratamiento en cada uno de los tres primeros muestreos y 06 plantas por tratamiento en el cuarto y último muestreo, para un total de 15 plantas por tratamiento, siendo cada una de ellas una repetición. Para su obtención, fueron sembradas 150 semillas, una por bolsa de polietileno, con medidas de 9 cm de diámetro y 15 cm de altura. La germinación comenzó a 10 - 15 días de la siembra de la semilla, seleccionando para el ensayo aquellas plantas cuyo estado de desarrollo inicial fuera similar, utilizando la altura y diámetro de planta como criterios para la selección de las plantas.

El manejo nutricional para cada tratamiento, consistió en la aplicación mediante inyectadora de 10 ml de solución del fertilizante 15-15-15 en agua (1 gr/100 ml), colocada cada 15 días en la base del tallo y alrededor de las plantas. Éstas se mantuvieron durante el transcurso del ensayo a plena exposición solar.

2.2. Muestreo de variables de plantas obtenidas del vivero

2.2.1. Medidas directas

La primera toma de datos o muestreo para la evaluación de la calidad de planta se realizó a los 45 dds, antes de comenzar las aspersiones o tratamientos, a una edad aproximada de 30 días de edad de las plantas. Luego de este primer muestreo, se realizaron muestreos mensuales durante la permanencia de las plantas en vivero. Cada muestreo consistió de un muestreo destructivo de plantas que, para evitar el efecto de borde, se extrajeron en forma aleatoria tres plantas centrales por tratamiento. Se llama muestreo destructivo ya que hay que sacrificar las plantas para la obtención de los pesos secos (aéreo y radicular). En cada planta se evaluaron como medidas directas, el área foliar de cada foliolo, así como el área foliar total por planta (cm^2), además de peso aéreo y radicular de la planta (g), tanto peso fresco como seco. Ya que la caoba presenta dimorfismo foliar, durante los primeros 2 - 3 meses de edad de las plantas se evaluaron hojas simples, aun sin desarrollo de hojas compuestas, características en posteriores etapas de desarrollo. La primera hoja compuesta aparece después de los 75 días (Niembro 2010; Alvarenga & Flores 1988). Cada hoja compuesta es paripinnada, constituida por 4 - 5 pares de folíolos. El área foliar (AF) se determinó, colocando una lámina de papel milimetrado transparente sobre cada foliolo a medir, trazando su contorno, dentro del cual se encuentran los cuadrados a contar, originando el área de cada foliolo en cm^2. Para el área foliar total de cada planta, se suman las áreas de las siluetas del total de foliolos que tenga la planta. Para el peso aéreo y radicular de la planta, se separaron las partes aérea y radical con tijeras de podar. Primero se determinó el peso fresco en una balanza digital calibrada en gramos. Cada parte de la planta se colocó en un horno de secado durante 72 horas a 70 ºC y finalmente se determinó el peso seco, considerando biomasa seca aérea y radical. Los datos de peso seco consistieron en la suma de ambos componentes.

2.2.2. Medidas derivadas (Índices de Crecimiento)

A partir de las medidas directas se determinaron las medidas derivadas, utilizando las fórmulas propuestas por Radford (1967), Evans (1972) y Hunt (1990), con el fin de calcular los índices de crecimiento (medidas derivadas), como sigue:

IAF = AF / AS, adimensional;

TCR= (lnW2 – lnW1) / (T2 – T1), expresada en g/g/día;

TCC: (1/AS) * (W2 – W1) / (T2 – T1), expresada en g/cm^2 de suelo/día;

TAN = (W2 – W1) / (T2 – T1) * (ln AF2 – ln AF1) / (AF2 – AF1), expresada en cm^2de hoja/día;

RAF= ½*(AF1 + AF2) / (W1 + W2), expresada en cm^2 de hoja/g

Dónde, IAF: índice de área foliar, además del IAF óptimo, que es aquel con el cual se consigue la máxima Tasa de Crecimiento del Cultivo (TCC), con una captación más efectiva de la Radiación Fotosintéticamente Activa (RFA); TCR: Tasa de Crecimiento Relativo; TCC: Tasa de Crecimiento del Cultivo; TAN: Tasa de Asimilación Neta; RAF: Relación de Área Foliar; AF: Área Foliar planta; AS: área de suelo ocupada por la planta (AS= 3,1416 x $(4,5)^2$= 63,6 cm^2); AF1: área foliar de la muestra del mes anterior; AF2: área foliar de la muestra del mes actual;W1: peso seco de la muestra del mes anterior;W2: peso seco de la muestra del mes actual; T1: fecha del muestreo

del mes anterior, expresado en días después de la siembra (dds); T2: fecha del muestreo del mes actual (dds), T2 - T1 es la diferencia en días transcurridos entre muestreos después de la siembra, que para el ensayo es constante (30 días).

Ya que es imposible realizar medidas de la biomasa seca de una misma planta en distintos momentos (ya que es una medición destructiva), los índices de crecimiento se calculan a partir de muestreos de plantas diferentes a lo largo del período experimental. El método más usado para el cálculo consiste en cosechar un número suficiente de plantas (10 a 15 submuestras por repetición) en tiempos distintos (mínimo dos; usualmente de cuatro a cinco según el ciclo de cultivo de la especie en estudio). Los diferentes índices se pueden calcular con los promedios de peso de todas las cosechas parciales o a partir del peso seco total de cada planta individual (Poorter & Garnier 1996; Hoffmann & Poorter 2002).

2.3. Análisis de los datos

Para el análisis de los datos, se realizó previamente el análisis de normalidad de Shapiro-Wilk para verificar la distribución de los datos, además de la prueba de homogeneidad de varianzas.

El procesamiento de los datos para las variables directas peso seco y área foliar se llevó a cabo mediante el procedimiento ANOVA de SAS®, versión 9.1. Con este procedimiento se determin*ó* la existencia o no de diferencias significativas entre tratamientos y muestreos. La comparación de medias se hizo a través de la prueba de medias de Duncan (P < 5 %). También se realizó el procedimiento REG para obtener las curvas de ajuste del crecimiento de las variables directas. Las variables derivadas se calcularon por las formulas descritas anteriormente. Luego cada variable se graficó en función del tiempo (edad de las plantas) y tratamiento de aspersión.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

PRUEBA DE NORMALIDAD DE LOS DATOS

Para cada evaluación mensual o muestreo, se corrió el procedimiento UNIVARIATE de SAS con el objetivo de verificar la normalidad de los datos de cada variable evaluada. Se tomó en consideración para rechazar la hipótesis nula de normalidad un valor de $p < 0{,}05$. En consecuencia, se asumió que los datos de cada variable presentaban normalidad si el valor de $p \geq 0{,}05$ (O'Rourke *et al*. 2007). Por este procedimiento se determinó que los datos de las variables evaluadas presentaron normalidad durante las evaluaciones.

COMPORTAMIENTO DEL ÁREA FOTOSINTÉTICA (AF)

De los valores obtenidos se desprende que el efecto de los muestreos mensuales y de los tratamientos de aspersión es altamente significativo, a un nivel de significancia del 5 % para el área foliar de las plantas. Para la interacción entre muestreos y tratamientos resulto significativo *(CUADRO 1)*.

Para el caso de la comparación entre medias, la prueba de Duncan permitió subdividir la suma de los cuadrados obtenidos en el análisis de varianza, de tal manera que la separación de medias pueda utilizarse para comparar los muestreos y tratamientos de aspersión en relación al comportamiento del área foliar. En los resultados de ésta comparación se observa que, en relación a los muestreos, el área foliar presento un comportamiento ascendente entre el

CUADRO 1. Análisis de varianza para el área foliar (AF) de caoba según la edad de las plantas (muestreo) y tratamientos de aspersión.

FUENTE DE VARIACIÓN	GRADOS DE LIBERTAD	SUMA DE CUADRADOS	CUADRADOS MEDIOS	F	PR > F
Modelo	19	2.175.602,57	114.505,39	20,48	< 0.0001**
Error	55	307.452,22	5.590,04		
Total	74	2.483.054,78			
	R^2 0,88	CV (%) 20,6	CME 74,7	MEDIA 361,63	
Muestreo	3	1.907.572,13	635.857,37	113,75	< 0,0001**
Tratamiento	4	124.204,62	31.051,15	5,55	0,0008**
Muestreo*tratam	12	143.825,83	11.985,48	2,14	0,0284*

**Altamente significativo y *significativo al 5 %

primer (M1) y tercer muestreo (M3), a una edad de las plantas de 105 días, edad en la que alcanza el máximo valor (554, 93 cm^2), presentando diferencias altamente significativas con los otros muestreos. Luego disminuye para el cuarto muestreo (M4), a la edad de 135 días ***(CUADRO 2)***.

Al comparar los tratamientos, se observa que la aspersión de las plantas con GiberGrop® a 600 mg/L (T5) presenta el mayor desarrollo foliar (430,05 cm^2), sin diferencias significativas con la aspersión de las plantas solo con agua corriente (T1), con el que se obtiene una media de 381,04 cm^2, el cual no difiere significativamente con los tratamientos de aspersión con ProGibb® en concentraciones de 800 (T4) y 200 (T2) mg/L. La menor área foliar se obtuvo con aspersión de ProGibb® a 800 mg/L (T3), con un valor medio de 314,39 cm^2.

COMPORTAMIENTO DE PESO SECO TOTAL (PS)

Del ***CUADRO 3*** se desglosa que el efecto de los muestreos mensuales es altamente significativo a un nivel de significancia del 5 % para el peso seco total de las plantas (p < 0,0001).

Esta situación cambia al evaluar el efecto de los tratamientos de aspersión, en los que no existe significancia (p= 0,5752). La prueba de Duncan permitió la separación de medias para comparar los muestreos en relación al comportamiento del peso seco total. Sin embargo, a pesar de no existir diferencias significativas entre los tratamientos, la aspersión con GiberGrop® a 600 mg/L (T5) presenta el mayor peso seco total (4,44 g), seguido del tratamiento de aspersión de las plantas solo con agua corriente (T1), con el que se obtiene una media de 4,3 g ***(CUADRO 4)***.

En los resultados de la comparación de medias entre muestreos (edad de las plantas) se observa que, el peso seco presento un comportamiento ascendente y progresivo entre el primer

CUADRO 2. Separación de medias utilizando la prueba de Duncan del área foliar (AF) según edad de las plantas (muestreos) y tratamientos de aspersión.

FUENTE DE VARIACIÓN	AGRUPAMIENTO POR DUNCAN (*)	MEDIA	N	MÉTODO
Muestreo	a	554,93	15	M3
	b	452,73	30*	M4
	c	210,66	15	M2
	d	137,10	15	M1
* En el cuarto muestreo (M4) se evaluaron 6 plantas/tratamiento				
Tratamiento	a	430,05	15	T5
	b a	381,04	15	T1
	b c	350,50	15	T4
	b c	332,19	15	T2
	c	314,39	15	T3
*Medias con la misma letra no son significativamente diferentes				

CUADRO 3. Análisis de varianza para el peso seco total (PS) de caoba según la edad de las plantas (muestreos) y tratamiento de aspersión.

FUENTE DE VARIACIÓN	GRADOS DE LIBERTAD	SUMA DE CUADRADOS	CUADRADOS MEDIOS	F	PR > F
Modelo	19	485,43	25,54	13,26	< 0,0001**
Error	55	105,95	1,93		
Total	74	591,39			
	R^2 0,82	CV (%) 34,3	CME 1,39	MEDIA 4,04	
Muestreo	3	463,14	154,38	80,14	< 0,0001**
Tratamiento	4	5,63	1,41	0,73	0,5752
Muestreo*tratam	12	16,66	1,39	0,72	0,7249

**Altamente significativo y significativo al 5 %

(M1) y cuarto muestreo (M4) a 135 días, edad en la que alcanza el máximo valor (6,7 g), presentando diferencias altamente significativas con los otros muestreos.

MODELOS DE REGRESIÓN GENERADOS

El total de plantas por tratamiento para el ajuste de los modelos de regresión fue de 15 plantas/tratamiento. Para evaluar las tendencias ajustadas en el área foliar y acumulación de materia seca total para el total de plantas valoradas en el tiempo ***(CUADRO 5)***, los modelos de regresión para ambas variables concordaron con un modelo polinomial de tercer grado (R^2= 0,77 y R^2= 0,78, respectivamente), típico de las fases I (retardación) y II (logarítmica) del patrón de crecimiento de los organismos (Steward 1969). En las ***FIGURAS 1 Y 2*** se pueden apreciar curvas de crecimiento logístico.

CUADRO 4. Separación de medias por Duncan del peso seco total (PS) según edad de las plantas (muestreos) y tratamientos de aspersión.

FUENTE DE VARIACIÓN	AGRUPAMIENTO POR DUNCAN (*)	MEDIA	N	MÉTODO
Muestreo	a	6,70	30*	M4
	b	4,46	15	M3
	c	1,48	15	M2
	c	0,88	15	M1
* En el cuarto muestreo (M4) se evaluaron 6 plantas/tratamiento				
Tratamiento	a	4,44	15	T5
	a	4,30	15	T1
	a	3,86	15	T2
	a	3,85	15	T3
	a	3,76	15	T4
*Medias con la misma letra no son significativamente diferentes				

CUADRO 5. Modelos generados para la estimación del área foliar (AF) y peso seco total (PS) según la edad de las plantas.

VARIABLE DEPENDIENTE	PARÁMETRO	ESTIMADO	ERROR ESTÁNDAR	VALOR T	PR > T
AF	Intercepto	2.103,19	372,06	5,65	< 0,0001
	T	- 86,32	14,51	- 5,95	< 0,0001
	T^2	1,15	0,172	6,66	< 0,0001
	T^3	- 0,0044	0,00063	- 6,99	< 0,0001
	R^2=0.77; CV (%)=24,9 AF=2103,2 – 86,32 T + 1,15 T^2– 0,000633T^3				
PS	Intercepto	11,29	5,55	2,03	0,046
	T	- 0,447	0,22	- 2,07	0,043
	T^2	0,0057	0,0026	2,20	0,031
	T^3	- 0,000019	0,0000095	- 2,04	0,045
	R^2=0.783; CV (%)= 33,25 PS=11,29 – 0,45 T + 0,0057 T^2– 0,0000193 T^3				

AF: área foliar; PS: peso seco total; T: edad de las plantas en días; T^2: edad de las plantas al cuadrado; T^3: edad de las plantas al cubo

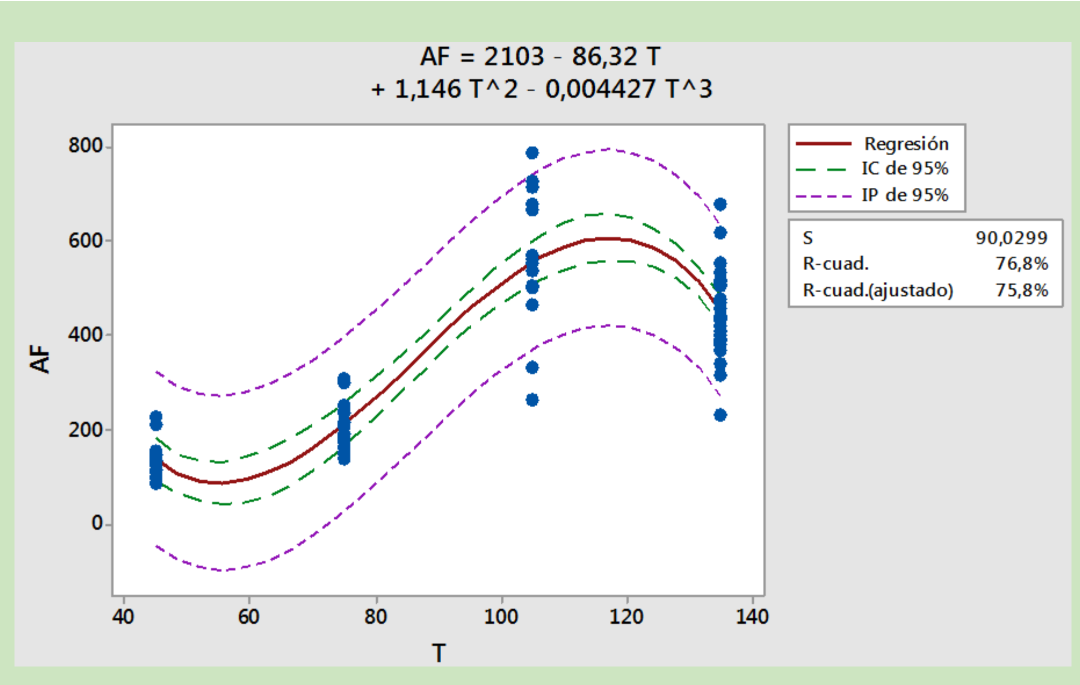


FIGURA 1. Tendencias ajustadas de acumulación de área foliar (AF) en plántulas de caoba, durante 135 días de edad de las plantas.

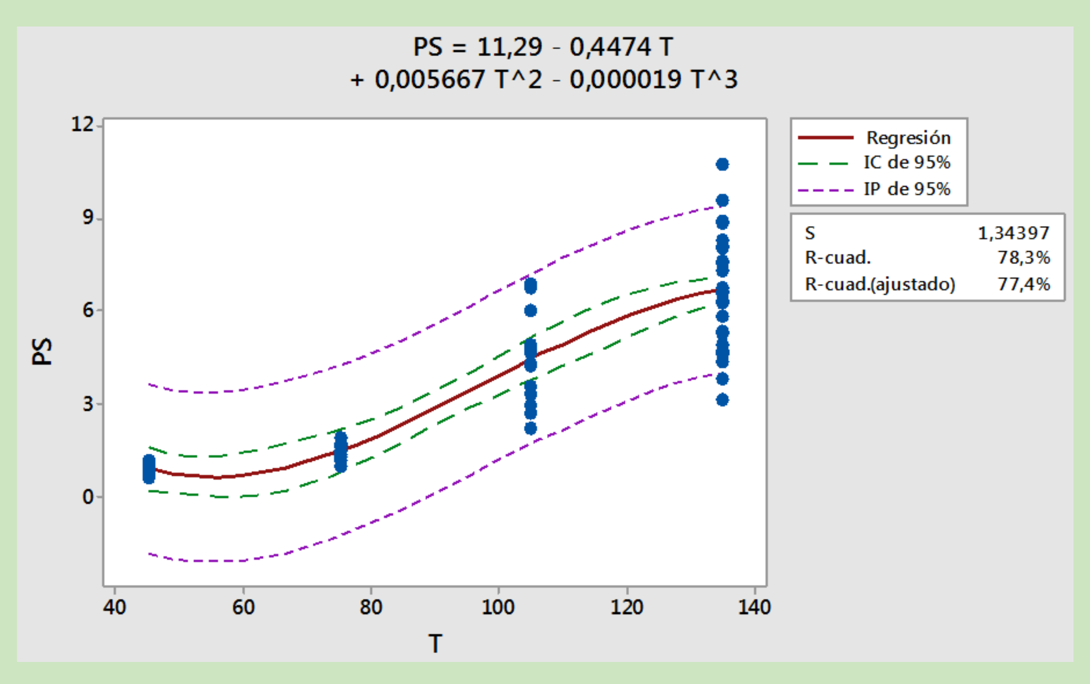


FIGURA 2. Tendencias ajustadas de acumulación de peso seco (PS) en plántulas de caoba, durante 135 días de edad de las plantas.

Antes de los 60 días de edad de las plantas, tanto el área foliar como la acumulación de materia seca son ligeramente bajos. Este crecimiento inicial lento, pudiera estar relacionado con una fase de aclimatación que comienza por generar mal funcionamiento de los estomas, menor contenido de reservas y baja concentración de clorofila, determinando tasas de actividad fotosintética muy reducidas, lo que se traduce en bajas tasas de crecimiento inicial. Posteriormente, las plantas comienzan un crecimiento progresivo, correspondiente con una fase logarítmica (60 - 80 días de edad), con mayores valores de área foliar y materia seca, siendo menos intensa la acumulación de materia seca. Esto significa que la rapidez de crecimiento (dv/dt) es baja al principio, pero aumenta en forma continua. Luego se observa la fase lineal (80 - 105 días), en las que continua el aumento del área foliar y materia seca a una velocidad constante, indicada por una pendiente constante.

Finalmente se observa una fase de estancamiento del crecimiento, caracterizada por una velocidad decreciente del crecimiento (> 105 días de edad). Estas curvas demuestran que para el tipo de envase (9 cm de diámetro y 15 cm de altura) en los que crecieron las plantas, pudieran permanecer en vivero hasta un máximo de 120 días, ya que posterior a este tiempo las plantas presentan decrecimiento.

ÍNDICES DE CRECIMIENTO DE LAS PLANTAS

En la presente investigación se tomaron 03 plantas por tratamiento en cada uno de los tres primeros muestreos y 06 plantas/tratamiento en el último muestreo, tomando los valores promedio por tratamiento para la determinación de los índices de crecimiento ***(CUADRO 6)***.

CUADRO 6. Valores promedio de los diferentes índices de crecimiento sobre la unidad de muestreo (planta).

M	TRAT	IAF	TCR	TCC	TAN	RAF
M12 (45 – 75 días)	T1	1,451	0,02496	0,0004088	0,0001799	70,14
	T2	2,110	0,00573	0,0000943	0,0000385	74,67
	T3	2,131	0,01833	0,0003407	0,0001339	67,63
	T4	1,969	0,02039	0,0003669	0,0001482	67,78
	T5	3,087	0,01683	0,0003512	0,0000959	86,75
M23 (75 – 105 días)	T1	3,357	0,04339	0,0020755	0,0003339	63,04
	T2	2,821	0,04331	0,0015933	0,0003215	64,48
	T3	3,009	0,02040	0,0006813	0,0001642	62,11
	T4	3,061	0,03961	0,0018291	0,0003267	59,80
	T5	4,307	0,03494	0,0016405	0,0002361	72,32
M34 (105 – 135 días)	T1	10,362	0,00812	0,0007862	0,0000895	45,57
	T2	7,967	0,01477	0,0012212	0,0001681	43,35
	T3	5,546	0,03002	0,0021751	0,0003479	40,64
	T4	9,256	0,00435	0,0003669	0,0000466	47,05
	T5	10,498	0,01402	0,0013208	0,0001440	48,27

M: muestreos; M12 – M34: muestras tomadas entre muestreos; T1 – T5: tratamientos; IAF: índice de área foliar; TCR: tasa de crecimiento relativo (g/g/día); TCC: tasa de crecimiento del cultivo (g/cm^2/día) ; TAN: tasa de asimilación neta (g/cm^2/día); RAF: relación de área foliar (cm^2/g).

Índice de Área Foliar (IAF)

La producción de materia seca está relacionada con el área foliar, por lo tanto, cuando esta última es alta, se espera una alta acumulación de materia seca. En el caso de esta investigación, el máximo IAF coincidió con el último muestreo realizado, correspondiente a 135 días de edad de las plantas para todos los tratamientos ***(CUADRO 6, FIGURA 3)***.

Esta tendencia se empezó a observar a partir de 75 días de edad, período hasta el cual las plantas dependen en su mayoría de las reservas del endospermo, y en menor grado, de los nutrimentos edáficos (Richards & Rowe 1977). Al incrementarse el área foliar, la respiración de mantenimiento (Rm) se incrementa, de esta manera se necesita más eficiencia de los sistemas fotosintético y radical para enviar los fotoasimilados y nutrientes hacia los vertederos (Schaffer *et al.* 1996).

Hay que hacer notar que, durante todo el ciclo de vivero, el tratamiento de aspersión con GiberGrop® obtuvo los mayores valores de IAF. Todos los tratamientos presentan valores ascendentes, lo que significa una recuperación del área foliar, siendo notable el tratamiento de aspersión solo con agua, presentando para la última evaluación un valor de 10,362, como segundo mayor valor.

En plántulas de maraco (*Theobroma bicolor* H.B.K.), se observa lo contrario, con un ascenso progresivo desde la siembra hasta la primera floración, con el máximo valor presentado a los 118 días, seguido de un comportamiento irregular con tendencia a disminuir y es así como el último valor que se registró fue el menor valor. Al analizar las variaciones del Índice, se observó que, a través del tiempo, fue mayor el área de suelo ocupada por la planta que la producción de área foliar (Hernández *et al.* 1995).

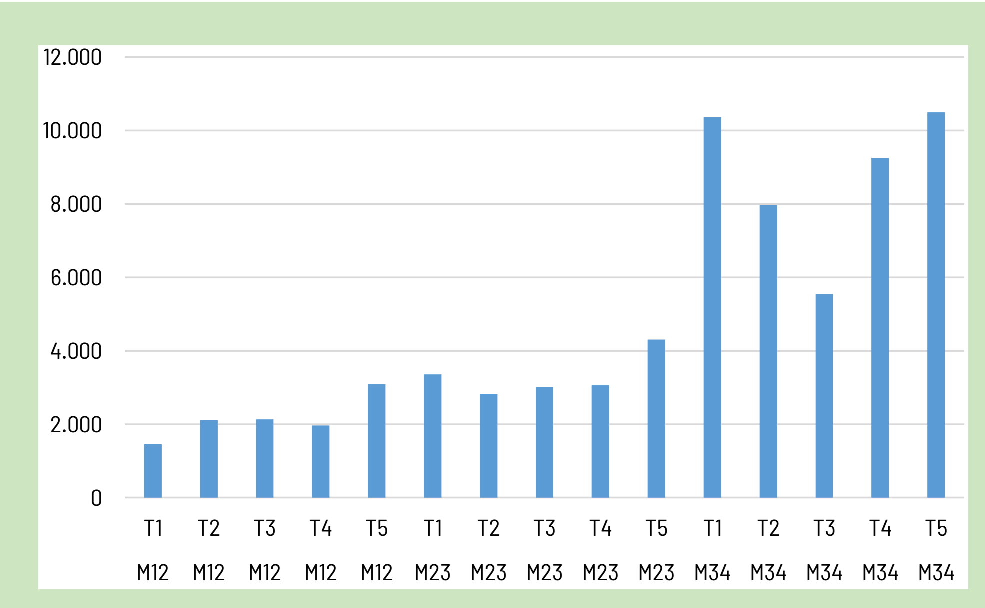


FIGURA 3. Comportamiento del índice de área foliar (IAF) en plantas de caoba por tratamiento y edad de las plantas (M12 – M34).

En relación al índice de área foliar optimo, es aquel que soporta la máxima tasa de materia seca, y se consigue cuando el cultivo intercepta virtualmente toda la RFA disponible (Clavijo 1989), y en consecuencia las capas más bajas de hojas son capaces de mantener un balance positivo de carbono (Hunt 1978). El índice de área foliar optimo máximo se obtuvo con el tratamiento de aspersión con ProGibb® en concentraciones de 400 mg/L (0,0021751), que puede estar relacionado con la arquitectura lograda por las plantas con este tratamiento de presentar un follaje erecto, de forma que el ángulo de inserción de las hojas puede facilitar la exposición de las mismas a la RAF y así incrementar la eficiencia en la producción de biomasa. Los tratamientos que obtuvieron el IAF óptimo con valores de IAF menores al máximo, puede ser por efecto de un incremento del sombreamiento cuando se obtiene el IAF máximo, condición en la cual parte del área foliar no queda expuesta a la RAF, reduciendo la tasa fotosintética e incrementando la tasa respiratoria de mantenimiento.

Por lo demás, los bajos valores de IAF pueden originarse por efecto del área de suelo que se obtiene con el envase de dimensión 9 cm de diámetro y 15 cm de altura, lo que implica una menor área foliar por unidad de superficie de suelo.

Relación de Área Foliar (RAF)

Los mayores valores fueron encontrados para todos los tratamientos durante las primeras evaluaciones, siendo notable una disminución progresiva en las posteriores evaluaciones, debido al incremento de la biomasa total y por ende del costo respiratorio, hasta alcanzar los menores valores entre el tercer y cuarto muestreo (105 - 135 días de edad) en todos los tratamientos. El tratamiento de aspersión con GiberGrop® obtuvo los mayores valores de RAF en todas las evaluaciones realizadas ***(FIGURA 4)***.

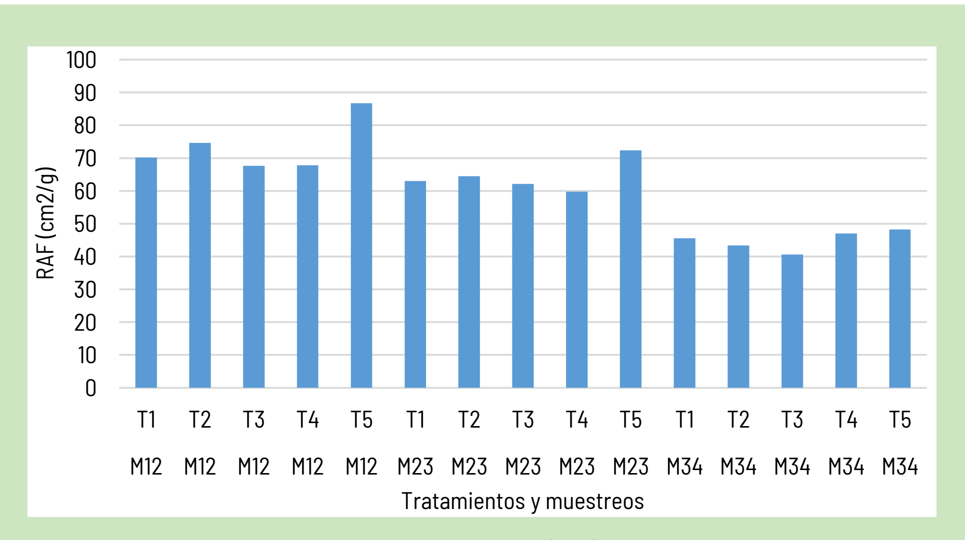


FIGURA 4. Comportamiento de la relación de área foliar (RAF) en plantas de caoba por tratamiento y edad de las plantas (M12 – M34).

Esto pudiera significar que hay una máxima capacidad fotosintética potencial y un bajo costo respiratorio potencial (Clavijo 1989), ya que al comienzo del ciclo de vivero casi todas las hojas están expuestas a la RAF. Las primeras evaluaciones corresponden a la etapa fenológica de desarrollo de hojas, momento en el cual no se ha alcanzado la cobertura total del cultivo.

Lo anterior coincide con la investigación en plantas de maraco (*Theobroma bicolor* H.B.K.), en las que se observó un descenso del Índice en los primeros 72 días y los autores lo atribuyen a que la planta produjo un mayor número de hojas, aunque no de gran tamaño, y esto explicaría la mayor acumulación de materia seca con la menor área foliar (Hernández *et al.*, 1995). La RAF es un indicador del balance entre la capacidad potencial de fotosíntesis y el costo respiratorio; es decir, es una medida de la capacidad fotosintética por unidad de biomasa de la planta (Amanullah *et al.* 2007).

Con el tratamiento de aspersión con Giber-Grop®, las plantas alcanzaron de forma más rápida los mayores valores de RAF, desarrollaron su aparato fotosintético en forma más rápida que los demás tratamientos.

Tasa de Asimilación Neta (TAN)

La TAN como indicador de la eficiencia fotosintética promedio, presentó los mayores valores al comienzo del ciclo de vivero en los tratamientos de aspersión solo con agua y el tratamiento ProGibb® 800 mg/L, debido a que las plantas se encontraban en el inicio de la etapa fenológica de desarrollo de hojas, donde la mayoría de estas hojas se encontraban expuestas a la RAF. En posteriores evaluaciones, la TAN aumento progresivamente durante el segundo y tercer muestreo, sin embargo, se observaron algunas fluctuaciones, sobre todo en los tratamientos con ProGibb® a 200 y 800 mg/L, probablemente relacionado con la máxima acumulación de materia seca de hojas y tallos en este intervalo de tiempo, garantizado por una eficiencia fotosintética alta (*FIGURA 5*).

El tratamiento con ProGibb® a 400 mg/L fue el único tratamiento que presento un aumento gradual y progresivo en todo el ciclo de vivero, lo que indica que con el trascurrir del tiempo mejora su eficiencia fotosintética.

Es característico de algunas especies vegetales su habilidad para almacenar temporalmente metabolitos fotosintéticos y nutrientes en tejidos a lo largo de la vía de transporte entre la fuente y el vertedero, quedando disponible para uso posterior en la planta, ya sea porque la demanda se incrementa o porque la disponibilidad de fotoasimilados se reduce en un momento dado (Wardlaw 1990).

De hecho, los mecanismos fisiológicos se entienden que aplican para la generalidad de las especies vegetales, particularmente en caoba no se cuenta con trabajos de investigación donde se haya analizado esta condición, por lo que la respuesta observada para el tratamiento ProGibb® 400 mg/L sobre el incremento progresivo de la TAN debido al incremento de la materia seca, debe revisarse con mayor detalle para identificar si se atribuye a una mayor actividad de las hojas remanentes (mayor eficiencia fotosintética) resultante del incremento de la potencia de la demanda como resultado del efecto hormonal o a un almacenamiento temporal de fotoasimilados en la vía de transporte.

Tasa de Crecimiento Relativo (TCR)

Todos los tratamientos, con excepción de Pro-Gibb® a 400 mg/L, presentaron sus valores más

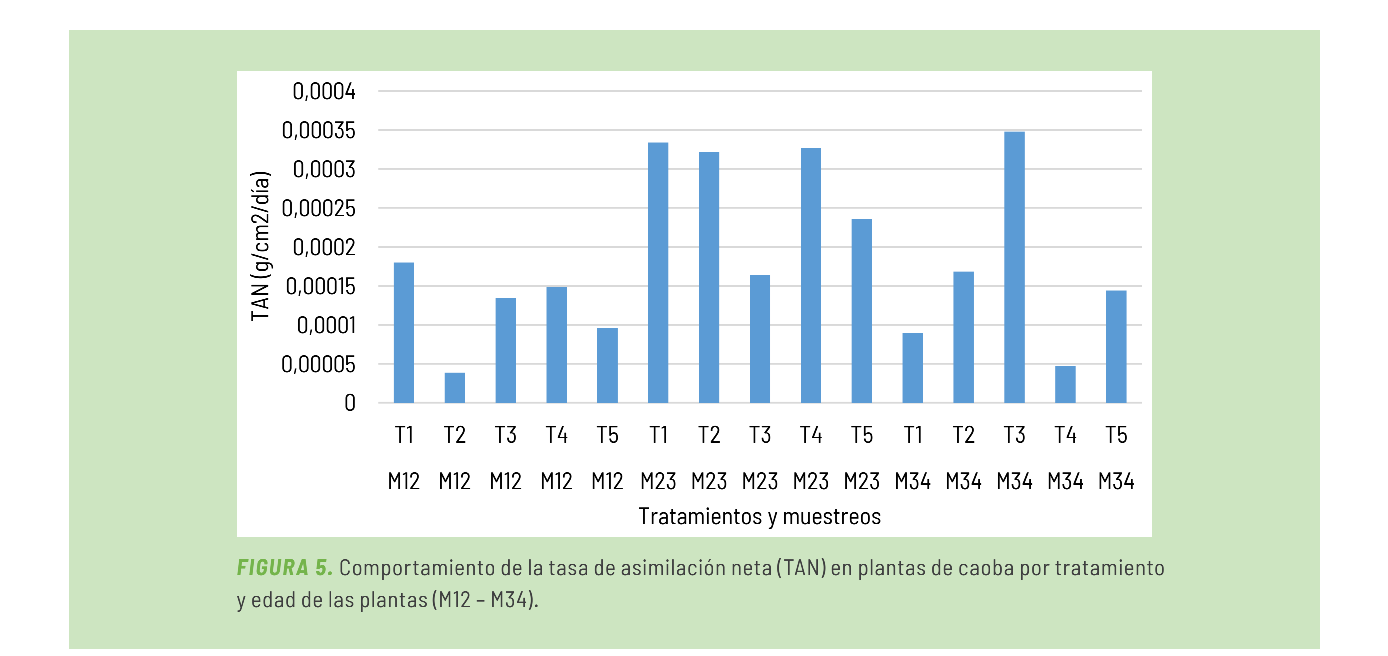


FIGURA 5. Comportamiento de la tasa de asimilación neta (TAN) en plantas de caoba por tratamiento y edad de las plantas (M12 – M34).

altos de TCR entre 75 - 105 días de edad de las plantas, esto significa que, en esta etapa de desarrollo, las plantas de estos tratamientos fueron eficientes en la elaboración de nuevo material. En general, estos tratamientos presentaron un comportamiento muy similar en la TCR durante el ciclo, que fueron disminuyendo progresivamente hasta alcanzar los menores valores entre 105 - 135 días de edad, debido a que durante esta etapa se inició la etapa de reducción del crecimiento como producto de que la capacidad del envase no permitía el desarrollo de las plantas, presentando una disminución en la materia seca total de la planta.

El tratamiento con ProGibb® a 400 mg/L fue el único tratamiento que presento un aumento gradual y progresivo en todo el ciclo de vivero, lo que indica que con el trascurrir del tiempo mejora su eficiencia en la elaboración de nuevo material ***(FIGURA 6)***.

Es decir, la TCR depende de la acumulación de materia seca en el tiempo. La pendiente de la regresión lineal obtenida cuando se grafica el logaritmo natural del peso seco total en función de los días es TCR (Di Benedetto & Tognetti 2016).

Los bajos valores de la TCR entre 45 - 75 días de edad, son debidos a que, en esta etapa, la planta es pequeña y está gastando sus reservas endospérmicas principalmente, con lo cual se presenta un gasto alto de energía debido a la respiración de crecimiento (Rc), y adicionalmente empieza a extraer los nutrientes disponibles del sustrato en el cual está sembrada (Abad *et al.* 2004). Como resultado, el metabolismo se acelera con el fin de producir los esqueletos carbonados para su crecimiento (Arp 1991, Salisbury & Ross 1994). Entre 75 - 105 días aumenta la materia seca y a partir de este periodo, la pendiente se suaviza debido a que disminuye la materia seca, con lo cual la respiración metabólica (Rm) se hace mayor que en la etapa anterior, y por tanto disminuye la TCR.

Esta tendencia decreciente de la TCR coincide con la reportada por Mazorra *et al.* (2003),

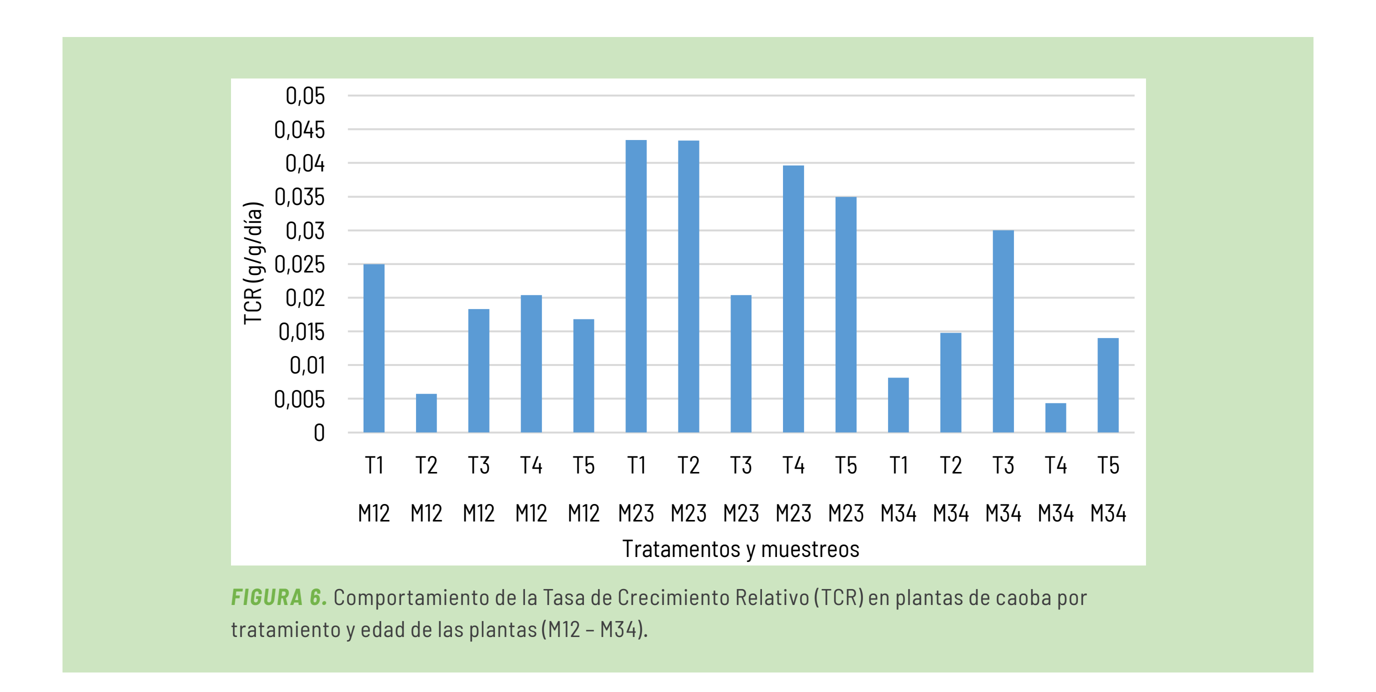


FIGURA 6. Comportamiento de la Tasa de Crecimiento Relativo (TCR) en plantas de caoba por tratamiento y edad de las plantas (M12 – M34).

en un estudio realizado en uchuva (*Physalis peruviana*) y con Gil & Miranda (2007) en lechosa (*Carica papaya* L.), con lo cual se concluye que la TCR es un parámetro de crecimiento muy sensible a las condiciones de crecimiento donde se desarrolla el cultivo. Lo cual se observa cuando las raíces se someten a algún tipo de restricción física que limita su expansión y origina un retraso o detrimento en la distribución de fotosintatos, con la consecuente inhibición del crecimiento.

Tasa de Crecimiento del Cultivo (TCC)

En general, para todos los tratamientos, se observó que, hasta 75 días de edad el crecimiento de las plantas fue lento debido a que existen pocas hojas en relación con el área de suelo. Esta tasa representa la ganancia en peso de una comunidad de plantas por unidad de área de suelo por unidad de tiempo. A partir de este momento, se incrementó el área foliar en la misma área de suelo, por tanto, se aumentan los valores de TCC, lo que se observa en la curva como un aumento exponencial. Sin embargo, luego de este incremento exponencial ocurrido entre 75 – 105 días de edad de las plantas, se presenta un decrecimiento en los tratamientos, con excepción de ProGibb® a 400 mg/L ***(FIGURA 7)***.

Como índice que representa la productividad del cultivo, la TCC indica la eficiencia productiva de biomasa por unidad de superficie de suelo y por unidad de tiempo (Hunt 1978). El tratamiento con ProGibb® a 400 mg/L fue el único tratamiento que presento un aumento gradual y progresivo en todo el ciclo de vivero, lo que indica que con el trascurrir del tiempo mejora su eficiencia en la elaboración de nuevo material por unidad de superficie de suelo y por unidad de tiempo.

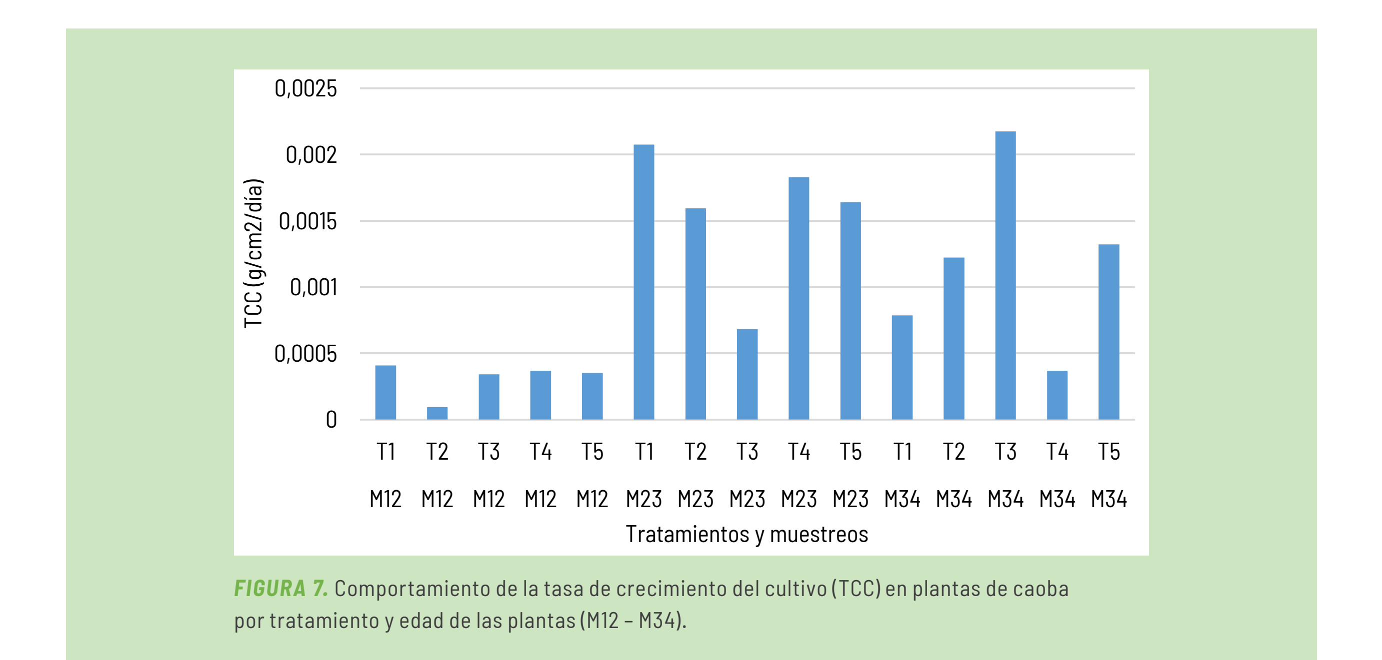


FIGURA 7. Comportamiento de la tasa de crecimiento del cultivo (TCC) en plantas de caoba por tratamiento y edad de las plantas (M12 – M34).

CONCLUSIONES

Las dimensiones del envase utilizado para el crecimiento de caoba en vivero (9 cm x 15 cm), retardaron el crecimiento del área foliar y peso seco total después de 120 - 130 días,

Las giberelinas tienen como efecto inicial, en una planta en crecimiento, el incrementar la longitud de los entrenudos. En el caso de plántulas de caoba, la consecuencia directa de una mayor distancia entre los nudos en donde se hallan insertas las hojas, sería una mayor exposición a la luz incidente, que es lo mismo, un menor sombreamiento entre las hojas de una misma planta. Dado el tipo de hábitat de donde proviene esta especie, bosques de galería o similares, su respuesta a las hormonas vegetales endógenas, particularmente giberelinas y auxinas, deberían ser estudiadas a fin de reconocer si la aplicación exógena lograría un efecto comparable al que se obtiene en otras especies vegetales como la caña de azúcar o en ornamentales.

El análisis estadístico de los datos resultó ser muy robusto, este es un aspecto muy importante dado el tipo de ensayo planteado. La sensibilidad requerida para el análisis de este tipo de datos permitió ver diferencias aun cuando las condiciones no fueron las más adecuadas para que las plantas expresen el máximo de su potencial de crecimiento. En las tendencias ajustadas para área foliar y acumulación de materia seca total en el tiempo, los modelos de regresión para ambas variables concordaron con un modelo polinomial de tercer grado, en las que se originó la curva típica de crecimiento sigmoide.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABAD, M.; NOGUERA, P. & CARRIÓN, C. 2004. Los sustratos en los cultivos sin suelo. pp. 113-158. En: Urrestarazu, M. (e.d.) Tratado de cultivos sin suelo. Ediciones Mundi-Prensa, Madrid.

ACOSTA, R.; MENDIZÁBAL L.; ALBA, J.; ALDERETE, A. y LANDERO, N. 2012. Variación de semillas y germinación de Swietenia macrophylla King de tres procedencias del estado de Tabasco, México. *Foresta Veracruzana* 14(1): 35-42.

ALVARENGA, S. & FLORES, E. 1988. Morfología y germinación de la semilla de caoba, *Swietenia macrophylla* King (Meliaceae) *Rev. Biol. Trop*, 36(2a): 261-267.

AMADOR, K.; DÍAZ, J.; LOZA S. & BIVIÁN, E. 2013. Efecto de diferentes reguladores de crecimiento vegetal sobre la germinación de semillas y desarrollo de plántulas de dos especies de *Ferocactus* (Cactaceae). *Polibotanica* 35: 109-131

AMANULLAH, H.; NAWAB, K. & ALI, A. 2007. Response of specific leaf area (SLA), leaf area index (LAI) and leaf area ratio (LAR) of maize (*Zea mays* L.) to plant density, rate and timing of nitrogen application. *World Applied Sciences Journal* 2(3): 235-243.

ARP, W. 1991. Effects of source-sink relations on photosynthetic acclimation to elevated CO2. *Plant Cell Environ*. 14: 869-875.

AZCÓN, J. & TALÓN, M. 2013. Fundamentos de Fisiología Vegetal. Segunda Edición. McGraw-Hill - Interamericana de España, S. L., Madrid, España. 651 p.

CLAVIJO, J. 1989. Análisis del crecimiento en malezas. *Revista Comalfi* 26: 12-16.

Di BENEDETTO, A. & TOGNETTI, J. 2016. Técnicas de análisis de crecimiento de plantas: su aplicación a cultivos intensivos. *RIA* 42 (3): 258 – 282.

EVANS, G. 1972. The cuantitative analysis of plant growth. *Studies in ecology*. Vol.1. Blackwell Scientific Publication, Londres. pp. 45-68.

GÁRATE, M. 2010. Técnicas de propagación por estacas. Universidad Nacional de Ucayali, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Escuela Profesional de Agronomía, Ucayali, Peru. 167 p. (Trabajo Monografico para optar al Título Profesional de Ingeniero Agrónomo)

GARDNER, F.; PEARCE, R. & MITCHELL, R. 1985. Physiology of crop plants. Iowa State University Press, USA. 325 p.

GIL, A. & MIRANDA, D. 2007. Efecto de cinco sustratos sobre índices de crecimiento de plantas de papaya (*Carica papaya* L.) bajo invernadero. *Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas*, 1 (2): 142-153.

HERNÁNDEZ, G.; CASAS, F.; MARTÍNEZ, W. & GALVIS, J. 1995. Análisis y estimación de parámetros e índices de crecimiento del árbol de maraco (*Theobroma bicolor* H.B.K.) a primera floración. *Agronomía Colombiana*, XII (1): 182-191.

HOFFMANN, W. & POORTER, H. 2002. Avoiding bias in calculations of relative growth rate. *Annals of Botany* 90 (1): 37-42.

HUNT, R. 1990. Basic growth analysis: plant growth analysis for beginners. Unwin Hyman, Londres. 112 p.

HUNT, R. 1978. Plant growth analysis. Edward Arnold Publishers, London. 67 p.

MARTURET, G.; REGALES, B.; VELÁSQUEZ R. & BETANCOURT, C. 2016. Efecto de los reguladores de crecimiento en la morfogénesis in vitro de caoba (*Swietenia macrophylla* King). *Pittieria* 40:164—173

MAZORRA, M.; QUINTANA, A.; MIRANDA, D.; FISCHER, G. & CHAVES, B. 2003. Análisis sobre el desarrollo y la madurez fisiológica del fruto de la uchuva (*Physalis peruviana* L.) en la zona de Sumapaz (Cundinamarca). *Agronomía. Colombiana*. 21(3): 175-189.

MONTALDI, E. 1995. Principios de fisiología vegetal. Ediciones Sur, La Plata, Argentina 298 p.

NIEMBRO, A. 2010. *Swietenia macrophylla* King En: Manual de semillas de árboles tropicales, Departamento de Agricultura de los Estados Unidos, Servicio Forestal (J.A. Vozzo. Editor). p. 703 – 705.

O'ROURKE, N.; HATCHER, L.; STEPANSKI, E. 2007. A step by step approach to using SAS for univariate e multivariate statistics, Second Edition, Carry, NC: SAS Institute Inc. 514 p.

POORTER, H. & GARNIER, E. 1996, Plant growth analysis: an evaluation of experimental design and computational methods. *Journal of Experimental Botany* 47 (9): 1343-1351.

RADFORD, P. 1967. Growth analysis formulae. Their use and abuse. *Crop Sci.* 7: 171-175.

RICHARDS, D. & ROWE, R. 1977. Effects of root restriction, root pruning, and 6-benzylaminopurine on the growth of peach seedlings. *Ann. Bot.* 41: 729-740.

ROA, J. & KAMP, U. 2012. Uso del índice topográfico de humedad (ITH) para el diagnóstico de la amenaza por desborde fluvial, estado Trujillo-Venezuela. *Revista Geográfica Venezolana*, 53(1): 109-126.

SALISBURY, F. & ROSS, C. 1994. Fisiología vegetal. Grupo Editorial Iberoamérica, México D.F. 760 p.

SÁNCHEZ, G. 2011. Propagación vegetativa de cuatro especies forestales utilizando un propagador de subirrigación. Colegio de Postgraduados, Institución de Enseñanza e Investigación en Ciencias Agrícolas, Programa en Producción Agroalimentaria en el Trópico, Campus Tabasco. México. 39 p (Tesis de Maestría)

SANTACRUZ, F.; CASTAÑEDA, J.; GASPAR, A.; ***NÚÑEZ***, N. & MORA, A. 2014. Rompimiento de la dormancia en semillas y propagación in vitro de *Cordia elaeagnoides* A. DC. *Revista Mexicana de Ciencias Forestales*, 5 (25): 84-97.

SAS Institute Inc. 2003. SAS user's guide: Statistics, version 9.1. SAS Inst., Inc., Cary, NC.

SCHAFFER, B.; SEARLE, C.; WHILEY, A. & NISSEN, R. 1996. Effects of atmospheric CO2 enrichment and root restriction on leaf gas exchange and growth of banana (*Musa*). *Physiol. Plant*. 97: 685-693.

SOUDRE, M; GUERRA, H; MUERAS, L; VASQUEZ, A; FLORES, M; MURRIETA, C; VIDAL, F; RIOS, R; PAREDES, O; GUERRA, W; DEL CASTILLO, D; YEPES, F. 2010. Protocolo para el optimo enraizamiento de estaquillas de cinco especies maderables. Proyecto PROVEFOR. IIAP, FINCYT. Ucayali, Pucallpa, Perú.

STEWARD, F. 1969. Analysis of Growth. Behavior of Plants and their Organs Physiology. 1a ed. Academic Press. Nueva York, EEUU. pp. 38-41.

TAIZ, L. & ZEIGER, E. 2002. Plant physiology. 3rd ed. Sinauer Associates Inc. Publishers, Sunderland, MA. 623 p.

WARDLAW, I. 1990. Tansley Review No. 27 The control of carbon partitioning in plants. *New Phytologist* 116(3): 341-381.

Notas Técnicas

ISSN(e) 2244-8888



ENERO-DICIEMBRE 2018
págs. 74-85

Lista actualizada de plantas hospederas de la mosca blanca *Bemisia tabaci* (Gennadius) en Venezuela: Parte II

Updated list of host plants of the whitefly *Bemisia tabaci* (Gennadius) in Venezuela: Part II

por

FIDEL A. RAMOS, EUSTAQUIO ARNAL, RAFAEL P. MONTILLA, DIEGO J. DIAMONT y EDUARDO SANDOVAL M.

Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas (INIA), Centro Nacional de Investigaciones Agropecuarias (CENIAP), Unidad de Protección Vegetal (UPV), Laboratorio de Entomología, Apdo. 588, Maracay 2101, Venezuela.
farch1414@hotmail.com, rmontilla@inia.gob.ve

RECIBIDO: mayo 31 de 2018 / **ACEPTADO:** octubre 31 de 2018

RESUMEN

La mosca blanca *Bemisia tabaci* es un insecto señalado como un vector importante de virus de plantas a nivel mundial, con un amplio rango de plantas hospederas que incluyen además de plantas cultivadas, malezas, ornamentales, especies forestales y medicinales. El conocimiento sobre plantas hospederas de insectos plaga e insectos benéficos permite establecer planes de controles adaptados a las condiciones socioculturales y ambientales de la actividad agrícola. En este sentido, el fin de este trabajo es contribuir al conocimiento de las plantas hospederas de *B. tabaci* en Venezuela, que permita proponer planes de manejo integrado de la mosca blanca. Para ello se revisó material bibliográfico científico sobre mosca blanca, tomando como año de partida, la publicación de Arnal y Ramos del año 2000, también se consideraron los reportes fitosanitarios de los laboratorios de Entomología y Virología de la Unidades de Protección Vegetal del INIA, así como el de otras instituciones relacionadas con el agro venezolano. Como resultado, en este trabajo se incorporan 92 especies de plantas hospederas en 34 familias botánicas, de las cuales 22 familias son nuevos registros para Venezuela. Las familias botánicas con mayor número de registros de plantas son Asteraceae (13), Fabaceae (13) y Solanaceae (7).

PALABRAS CLAVE: Aleyrodidae, botánica, plantas hospederas, preferencia fitófaga, taxonomía.

ABSTRACT

The whitefly *Bemisia tabaci* is an insect identified as an important virus vector of plants worldwide, with a wide range of host plants that also include crops, weeds, ornamentals, forest and medicinal plants. The knowledge about host plants of pests and beneficial insects allows establishing control plans adapted to the sociocultural and environmental conditions of the agricultural activity. In this sense, the purpose of this work was to contribute to the knowledge of the host plants of *B. tabaci* in Venezuela, which allow the proposal of integrated fly management plans. To this end, scientific bibliographical material on whitefly was revised, taking as year of departure, the publication of Arnal and Ramos of the year 2000, phytosanitary reports of the Entomology and Virology laboratories of the Plant Protection Units of INIA were also considered, as well as that of other institutions related to Venezuelan agriculture. As a result, this work incorporates 92 species of host plants in 34 botanical families, of which 22 families are new records for Venezuela. The botanical families with the highest number of plant records are Asteraceae (13), Fabaceae (13) and Solanaceae (7).

KEY WORDS: Aleyrodidae, botany, host plants, phytophagous preference, taxonomy.

INTRODUCCIÓN

La mosca blanca *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) es un insecto considerado una plaga fitófaga importante en una amplia variedad de cultivos, principalmente hortalizas (Cuéllar & Morales 2006, Romay *et al*. 2010), cereales (Vejar-Cota *et al*. 2009; Cruz & Baldin 2017) y cítricas (López & Segade 2017). Resultados de investigaciones señalan a *B. tabaci* como responsable de ocasionar daños por succión de savia, desmejorar la calidad de frutos y hojas debido al desarrollo de hongos (fumaginas) en su excremento y por inoculación de virus de plantas (Jones 2003, Urías-López *et al*. 2005; Brown 2007, Toloy *et al*. 2018).

Debido a su importancia como vector biológico de una amplia gama de virus que causan daño económico a la producción agrícola, la investigación para la búsqueda de información que permita encontrar soluciones de manejo compatible con el cuidado ambiental y humano no se detiene desde un punto de vista molecular (Queiroz *et al*. 2017; Lugo *et. al*. 2011), ecológica (Kumari & Kumar 2018; Bastidas 2014) y biológica (Ahmad & Rizvi 2014; García-Valencia *et al*. 2013) por mencionar algunos trabajos. Intentos mundiales para registrar la distribución y capacidad de *B. tabaci* para colonizar una gran variedad de plantas tanto cultivadas como silvestres (EPPO 2014; CABI 2018), ha dado origen a la publicación de diferentes trabajos sobre plantas hospederas de *B. tabaci,* encontrándose este insecto asociado a más de 500 plantas (Greathead 1986), aunque ese rango de plantas supera las 600 spp de plantas silvestres, cultivadas en campo e invernaderos (Gelman *et al*. 2005).

Mound & Halsey (1978) realiza un gran trabajo sobre Aleyrodidae, en el mismo, lista 1156 especies de moscas blancas en 126 géneros, con datos de distribución geográfica, plantas hospederas, parásitoides y depredadores. Azab *et al*. (1971) realiza un registro de plantas hospederas de mosca blanca para Egipto. Abd-Rabou & Simmons (2010) señalan que *B. tabaci* completó su desarrollo sobre 118 especies de plantas hospederas pertenecientes a 29 familias botánicas en Egipto. Li *et al.* (2011) indican que 361 plantas en 89 familias son hospederas de *B. tabaci* en China. Igualmente Zachrisson *et al*. (2017) realizaron un inventario de plantas hospedantes de *B. tabaci* al este de Panamá, registrando 16 plantas hospederas agrupadas en 11 familias botánicas.

En Venezuela, a finales de la década de los 80 y principio de los 90, las poblaciones de *B. tabaci* se incrementaron considerablemente, atacando diversos cultivos y malezas (Arnal *et al*. 1993b; Marcano 1996; Romay *et al*. 2016), esto motivó el estudio de plantas hospederas de la mosca blanca en el país, lo que arrojó como resultado una primera lista, que incluye 100 plantas hospederas correspondientes a 25 familias botánicas (Arnal *et al*. 1993b).

El desconocimiento de las plantas hospederas de *B. tabaci* representa una limitante cuando se plantean programas de control del insecto plaga, y aun mas cuando se ha reportado que *B. tabaci* es un complejo de especies con muchos biotipos (Perring, 2001). De allí que la información que se genere sobre la gama de plantas hospedantes de *B. tabaci*, a través de un proceso sistemático de muestreo representa una importante base para desarrollar estrategias en el manejo integrado de plagas.

Debido a la importancia de la mosca blanca y a la necesidad de conocer tanto su distribución como su preferencia alimentaria, el presente trabajo es una contribución a la ardua investigación sobre las plantas hospederas de este insecto vector.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se revisaron publicaciones científicas realizadas en el país, relacionadas con registros de *B. tabaci* y sus plantas hospederas. Muestras de plantas de diferentes localidades del país que portaban colonias de *B. tabaci*, fueron colectadas y/o recibidas en el Laboratorio de Entomología de la Unidad de Protección Vegetal (UPV) del INIA-CENIAP, el material entomológico de *B. tabaci* fue evaluado y preservado en hojas de papel absorbente y metido en sobres de papel, los cuales fueron depositados, hasta su procesamiento y montaje en láminas microscópicas, para su identificación por medio de equipos de microscopía óptica (marca Leica, modelo M8), todo el material estudiado se encuentra depositado y preservado en la colección entomológica del Museo de Insectos de Interés Agrícola (MIIA) de la UPV-INIA-CENIAP, ubicada en Maracay, estado Aragua. También se revisó material proveniente de otras unidades ejecutoras del INIA en el país, así como de otras instituciones públicas del estado venezolano (INSAI, Universidades, entre otras), aplicando el mismo procedimiento explicado anteriormente.

Las plantas no conocidas fueron identificadas en el Herbario "Víctor M. Badillo" (MY) del Instituto de Botánica, de la Facultad de Agronomía (FAGRO), de la Universidad Central de Venezuela (UCV), Maracay, estado Aragua. Los nombres científicos de las plantas fueron revisados y verificados a través de bibliografía especializada como la de Hokche *et al.* (2008), Schnee *et al.* (2010) y a través de las bases de de datos depositadas en Tropicos (2018) y The Plant List (2018).

Las muestras vegetales colectadas fueron envueltas en papel absorbente y colocadas en bolsas plásticas, con el propósito de ser trasladadas al laboratorio, evitar el exceso de humedad y facilitar la emergencia de adultos de *B. tabaci*, que permitieran obtener las cajas puparias del insecto, para su posterior identificación, las hojas de las plantas fueron conservadas en exsicatas con sus respectivos datos de colección. La cajas puparias de *B. tabaci* fueron seleccionadas y procesadas de acuerdo a la metodología publicada por Arnal *et al.* (1993a, 1993b), Arnal y Ramos (2000) y Ramos *et al.* (2015), y archivadas en cajas lamineros, y resguardadas en el MIIA.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados presentados, son consecuencia de una intensa y prolongada investigación, tanto de campo como de laboratorio, que involucró colecta, registro, identificación y preservación de plantas hospederas durante un periodo comprendido entre 1993 y 2016.

Los resultados de la investigación se muestran en el cuadro 1, en el mismo se reconocen las plantas hospederas de *B. tabaci* agrupadas por familias botánicas con sus respectivos datos de colección (nombre vulgar y científico, lugar, fecha y colector (es). Dichos resultados fueron comparados con los obtenidos por Mound & Halsey (1978), Greathead (1986) y Arnal *et al.* (1993b), los señalados con un asterisco (*) y con un circulo negro (•), corresponden a especies y familias de plantas respectivamente, que no aparecen registradas por el catálogo de Greathead (1986); así mismo, los resultados que aparecen marcados con dos asteriscos (**) indican nuevos registros de familias botánicas con respecto al trabajo realizado por Arnal *et al.* (1993b).

Se registraron 92 especies de plantas hospederas en 34 familias botánicas, de las cuales 22 familias se consideran nuevos registros para Ve-

CUADRO 1. Plantas hospederas de la mosca blanca Bemisia tabaci en Venezuela (1993-2015)

No.	FAMILIA	HOSPEDERO			LOCALIDAD	FECHA	COLECTOR (ES)
		NOMBRE VULGAR		NOMBRE CIENTÍFICO			
1	Acanthaceae	Mata de sangre	1	*Justicia secunda* Vahl. *	El Jarillo, edo. Miranda	16/04/2001	F. Ramos E. Arnal
		Croto	2	*Pseuderanthemum atropurpureum* (W. Bull) Radlk.*	Casa de la moneda Maracay, edo. Aragua	22/12/1999	M. Cermeli
2	Apocynaceae **•		3	*Plumeria* sp.*	La Victoria, edo. Aragua	13/05/2014	F. Ramos
3	Araceae **	Ocumo chino	4	*Colocasia esculenta* (L.) Schott*	Pantoño Cariaco, edo. Sucre	23/05/1995	E. Arnal
		Ocumo	5	*Xanthosoma sagittifolium* (L.) Schott*	CENIAP. Maracay, edo. Aragua	05/05/1995	F. Ramos
					Gavante. mpo. Tovar, edo. Aragua	14/06/2001	E. Arnal F. Ramos
					Tiara, edo. Aragua	07/12/2006	F. Ramos
4	Asclepiadaceae **	Algodón de seda	6	*Calotropis procera* (Aiton) W.T. Aiton*	Guanayen, edo. Aragua	18/05/2006	F. Ramos E. Arnal
5	Balsaminaceae **	Coqueta	7	*Impatiens sultanii* Hook.f.*	Baruta, Caracas, D.F.	30/09/1998	E. Debrot
6	Bignoniaceae **	Araguaney	8	*Handroanthus chrysanthus* (Jacq.) S.O.Grose*	CENIAP, Maracay, edo. Aragua	22/04/1997	F. Ramos E. Arnal
					CENIAP, Maracay, edo. Aragua	01/10/1998	F. Ramos V. Tellechea
		Apamate	9	*Tabebuia rosea* (Bertol.) Bertero ex A.DC. *	CENIAP, Maracay, edo. Aragua	19/11/1996	E. Arnal E. Debrot F. Ramos F. Centeno
7	Brassicaceae •	Brocoli chino	10	*Brassica oleraceae* var. *alboglabra* (L.H.Bailey)*	Sector El León Chirgua, edo. Carabobo	06/06/2000	F. Ramos E. Arnal
		Brócoli	11	*Brassica oleraceae* L. var. *italica* Plenck *	Predio San José, mpo. José Félix Ribas, edo. Aragua	28/09/2010	F. Ramos
			12	*Lunaria annua* L. *	Fca. La Morita, Nirgua, edo. Yaracuy	08/05/2007	E. Debrot
		Repollo	13	*Brassica oleraceae* var. viridis	Est. Exp. Sta. Cruz, edo. Aragua	25/01/1993	M. Cermeli
					Cariaco, edo. Sucre	23/05/1997	E. Arnal E. Soto
8	Cannaceae • **	Capacho	14	*Canna indica* L. *	CENIAP Maracay, edo. Aragua	06/07/1994	M. Cermeli
9	Capparaceae **	Garcita	15	*Cleome spinosa* Jacq.*	El Limón Maracay, edo. Aragua	24/04/2002	A. Ordosgoitti
10	Commelinaceae **	Cucaracha	16	*Tradescantia pendula* (Schnizl.) D.R. Hunt *	Gavante. mpo. Tovar, edo. Aragua	16/05/2001	F. Ramos E. Arnal
11	Asteraceae	Arvense	17	*Acmella brachyglossa* Cass.*	Valle de Tucutunemo, edo. Aragua	13/12/2005	E. Arnal F. Ramos
			18	*Heliopsis oppositifolia* (Lam.) S. Diaz*	Km 50. Agrop. Tierra Nueva mpo. Urdaneta, edo. Aragua	21/07/1998	E. Arnal F. Ramos
			19	*Acmella* sp. *	Fca. Agrop. Tierra Nueva. Km 50. Sur de Aragua	02/09/2005	F. Ramos E. Arnal
		Flor amarilla	20	*Aldama dentata* La Llave et Lex.*	Guanayen, edo. Aragua	18/05/2006	E. Arnal F. Ramos
			21	*Blainvillea dichotoma* (Murray) Stewart	Est. Exp. Montalbán, UCV edo. Carabobo	22/11/2005	E. Arnal F. Ramos
			22	*Chromolaena odorata* (L.) R.M. King & H. Rob.	IZA-UCV, Maracay, edo. Aragua	11/06/2006	O. Delgado

CUADRO 1. Continuación

No.	FAMILIA	HOSPEDERO			LOCALIDAD	FECHA	COLECTOR (ES)
		NOMBRE VULGAR		NOMBRE CIENTÍFICO			
11	Asteraceae	Margarita africana	24	Gerbera jamesonii Bolus ex Hook.f.	CENIAP, Maracay, edo. Aragua	16/08/1993	F. Ramos
					Fca. Las Mercedes, Taica Paracotos, edo. Miranda	02/08/2007	A. Aponte
		Escoba amarga	25	*Parthenium hysterophorus* L.*	Asentamiento Casa Blanca, Dtto. Zamora edo. Aragua	11/11/1993	B. Linares A. Barradas
					Suata, Sur de Aragua	19/02/1999	E. Arnal F. Ramos
			26	*Smallanthus riparius* (Kunth) H. Rob*	Fca. Agrop. Tierra Nueva. Km 50. Sur de Aragua	02/09/2005	F. Ramos E. Arnal
		Espilantes	27	*Spilanthes* sp. *		28/10/1994	E. Arnal E. Soto
			28	*Tridax venezuelensis* Aristeg. *	San Francisco de Cara, edo. Aragua	15/02/1996	E. Arnal F. Ramos
			29	*Stevia* sp. *	Cagua, municipio Sucre, edo. Aragua	11/08/2016	J. Salcedo
12	Convolvulaceae		30	*Ipomoea hederifolia* L.*	San Francisco de Cara, edo. Aragua	08/03/1996	F. Ramos E. Arnal
			31	*Ipomoea nil* (L.) Roth.	San Francisco de Cara, edo. Aragua	08/03/1996	F. Ramos E. Arnal
			32	*Ipomoea tiliacea* (Willd.) Choisy*	Fca. Agrop. Tierra Nueva. Km. 50. Sur de Aragua	02/09/2005	F. Ramos E. Arnal
		Bejuco negro	33	*Merremia aegyptia* (L.) Urb.*	San Francisco de Cara, edo. Aragua	15/02/1996	E. Arnal F. Ramos
					San Francisco de Cara, edo. Aragua	08/03/1996	E. Arnal F. Ramos
					San Francisco de Cara, edo. Aragua	21/03/1996	E. Arnal F. Ramos
13	Costaceae **•	Caña de la India	34	*Costus speciosus* (J. Koenig) Sm.*	Maracay, Aragua	15/03/2013	E. Sandoval
14	Cucurbitaceae	Pepino de monte	35	*Cucumis anguria* L.*	San Juan de Los Cayos, edo. Falcón	17/04/1998	F. Ramos E. Arnal
		Pepinillo	36	*Melothria pendula* L.*	Paya, Turmero, edo. Aragua	27/06/1996	F. Ramos R. Romero R. Solórzano
		Cundeamor	37	*Momordica charantia* L.	San Francisco de Cara, edo. Aragua	02/05/1997	E. Arnal F. Ramos
15	Euphorbiaceae	Carcanapire	38	*Croton glandulosus* L.	Yaritagua, edo. Yaracuy	20/03/1997	A. Ordosgoitti
		Jabillo	39	*Hura crepitans* L. *	CENIAP, Maracay, edo. Aragua	22/04/1997	F. Ramos E. Arnal
		Emético	40	*Jatropha multifida* L.	La Victoria, edo. Aragua	11/05/1998	F. Ramos
		Tártago	41	*Ricinus communis* L.	Quibor, edo. Lara	24/03/1994	F. Ramos E. Arnal
16	Lamiaceae	Molinillo	42	*Leonotis nepetifolia* (L). R.Br. *	San Francisco de Cara, edo. Aragua	15/02/1996	E. Arnal F. Ramos
		Poleo	43	*Clinopodium brownei* (Sw.) Kuntze *	Suata, La Victoria, edo. Aragua	15/02/1998	F. Ramos
					El Jarillo, edo. Miranda	31/05/2001	E. Arnal F. Ramos
17	Fabaceae	Granadillo	44	*Caesalpinia granadillo* Pittier*	UCV. Maracay, edo. Aragua	10/06/1994	F. Ramos

CUADRO 1. Continuación

No.	FAMILIA	HOSPEDERO			LOCALIDAD	FECHA	COLECTOR (ES)
		NOMBRE VULGAR		NOMBRE CIENTÍFICO			
17	Fabaceae	Granadillo	44	*Caesalpinia granadillo* Pittier*	CENIAP, Maracay, edo. Aragua	17/05/1999	F. Ramos F. Centeno
		Quinchoncho	45	*Cajanus cajan* (L.) Millsp.	Sector La Flecha Acarigua, edo. Portuguesa	25/03/1994	A. Andrade
		Leguminosa	46	*Cf. Calopogonium*	San Juan de Los Cayos, edo. Falcón	17/04/1998	F. Ramos E. Arnal
		Maraquita	47	*Crotalaria incana* L. *	San Francisco de Cara, edo. Aragua	08/03/1996	E. Arnal F. Ramos
		Pegapega	48	*Desmodium distortum* (Aubl.) J.F. Macbr.*	UCV. Maracay, edo. Aragua	14/06/2002	O. Guenni T. Guedez
		Cujicito	49	*Desmanthus virgatus* (L.) Willd.*	San Francisco de Cara, edo. Aragua	08/03/1996	F. Ramos E. Arnal
		Bucare	50	*Erythrina* sp.	Hacienda Macapo, Magdaleno, edo. Aragua	11/05/1995	H. Giraldo
		Mata de ratón	51	*Gliriscidia sepium* (Jacq.) Kunt ex Walp.*	La Fundación El Pao, edo. Aragua	22/03/2007	F. Ramos E. Arnal
		Pica pica	52	*Mucuna pruriens* (L) DC.	San Francisco de Cara, edo. Aragua	21/03/1996	E. Arnal F. Ramos
		Frijol de monte	53	*Macroptilium lathyroides* (L.) Urb.			
		Samán	54	*Samanea saman* (Jacq.) Merr.*	CENIAP, Maracay, edo. Aragua	22/04/1997	F. Ramos E. Arnal
			55	*Sesbania exaltata* (Raf.) Cory*	Baruta, Caracas, D. F.	06/11/1997	E. Debrot
		Barbasco blanco	56	*Tephrosia cinerea** (L.) Pers.	Las Arenas, Tocuyo de la costa, edo. Falcón	07/06/1996	E. Arnal F. Ramos
18	Lythraceae **	Granada	57	*Punica granatum* L. *	Sector La Cucuta Palo Negro edo. Aragua	17/06/1994	R. Mora
19	Malvaceae	Vara de San José	58	*Althaea rosea* L.	Palo Negro, edo. Aragua	15/04/1994	E. Arnal F. Ramos W. Pacheco
		Escorsionaria	59	*Anoda cristata* (L) Schltdl*	Guanayen, edo. Aragua	14/12/2006	F. Ramos E. Arnal
			60	*Corchorus* sp.*	Hato El Gavilán, vía a Sosa, edo. Guárico	15/03/1994	F. Ramos E. Arnal
			61	*Herissantia crispa* (L.) Brizicky *	Cadillal, Tocuyo de la costa, edo. Falcón	29/08/1996	F. Ramos W. Pacheco
		Cayena	62	*Hibiscus* sp.	Maracay, edo. Aragua	25/04/1996	J.C. Salas
					El Peñon de Gavante Mpo. Tovar, edo. Aragua	27/04/1999	F. Ramos E. Arnal
					Colonia Tovar, edo. Aragua	09/09/1999	F. Centeno
					Gavante. Mpo. Tovar, edo. Aragua	08/02/2001	F. Ramos E. Arnal
			63	*Malvastrum coromandelianum* (L.) Garcke	Cagua, edo. Aragua	12/07/2007	M. Cermeli
		Cadillo	64	*Wissadula periplocifolia* (L.) Thwaites*	Asentamiento Casa Blanca, Dtto. Zamora edo. Aragua	11/11/1993	B. Linares A. Barradas
20	Moraceae **	Higo	65	*Ficus carica* (L.)	Samán de Guere edo. Aragua	25/07/1994	J. Mejias
		Morera	66	*Morus alba* (L.)	S. J. de Tiznados, edo. Guárico	07/07/2014	

CUADRO 1. Continuación

No.	FAMILIA	HOSPEDERO			LOCALIDAD	FECHA	COLECTOR (ES)
		NOMBRE VULGAR		NOMBRE CIENTÍFICO			
21	Myrtaceae **	Eucalipto	67	*Eucalyptus* sp. *	San Carlos, edo. Cojedes	19/09/2008 22/10/2009	P. Bravo
		Guayaba	68	*Psidium guajava* L.	CENIAP Maracay, edo. Aragua	26/08/1993	H. Meneses
					CENIAP Maracay, edo. Aragua	02/03/1995	F. Ramos V. Tellechea
22	Nyctaginaceae **	Tostón	69	*Boerhavia erecta* L.	San Francisco de Cara, edo. Aragua	21/03/1996	E. Arnal F. Ramos
23	Oxalidaceae	Trébol	70	*Oxalis* sp.*	UPV. INIA. Maracay, Aragua	03/06/2014	F. Ramos
24	Passifloraceae	Parchita de montaña	71	*Passiflora foetida* L. *	Cadillal, Tocuyo de la costa, edo. Falcón	07/06/1996	F. Ramos E. Arnal E. Soto
					CENIAP. Edif. 4.Maracay, edo. Aragua	14/08/2007	Sh. Labori
25	Phyllanthaceae **•	Flor escondida	72	*Phyllanthus niruri* L.	San Francisco de Cara, edo. Aragua	04/04/1997	F. Ramos E. Arnal A. Notz
					San Francisco de Cara, edo. Aragua	02/05/1997	E. Arnal F. Ramos
					Altagracia, edo. Lara	Jul-99	O. Aponte
					Cagua, edo. Aragua	Ago-99	M. Cermeli
26	Plantaginaceae **	Escoba dulce	73	*Scoparia dulcis* L. *	La Fundación, El Pao, edo. Aragua	22/03/2007	E. Arnal F. Ramos
27	Poaceae **	Pata de gallina	74	*Eleusine indica* (L). Gaertn*	Est. Exp. Experta. UCV Maracay, edo. Aragua	26/04/2004	L. Bautista
		Gamelote	75	*Megathyrsus maximus* (Jacq.) B.K. Simon & Jacobs*	Est. Exp. Experta. UCV Maracay, edo. Aragua	14/05/2004	L. Bautista
		Sorgo	76	*Sorghum bicolor* (L.) Moench *	Est. Exp. Experta. UCV Maracay, edo. Aragua	01/06/2004	L. Bautista
		Maíz	77	*Zea mayz* L.	Est. Exp. Experta. UCV Maracay, edo. Aragua	14/05/2004	L. Bautista
28	Polygonaceae **	Uva de playa	78	*Coccoloba uvifera* L.*	CENIAP, Maracay, edo. Aragua	01/10/1998	F. Ramos V. Tellechea
29	Scrophulariaceae **		79	*Torenia* sp. *	Los Teques, edo. Miranda	7-2014	T. Hurtado
30	Solanaceae	Tomate de árbol	80	*Cyphomandra betacea* (Cav.) Sendtn. *	El Jarillo, edo. Miranda	30/05/2002	E. Arnal F. Ramos
			81	*Datura innoxia* Mill.*	El Olivo, Quibor, edo. Lara	10/06/1998	F. Centeno E. Rangel
		Ñongue	82	*Datura stramonium* L.	Quibor, edo. Lara	24/03/1994	E. Arnal O. Mendoza F. Ramos
		Huevo de gato	83	*Solanum hirtum* Vahl*	CENIAP Maracay, edo. Aragua	26/08/1993	H. Meneses
					CENIAP, Maracay, edo. Aragua	19/11/1996	E. Arnal E. Debrot F. Ramos F. Centeno
		Hierba mora	84	*Solanum americanum* Miller*	San Francisco de Cara, edo. Aragua	21/03/1996	E. Arnal F. Ramos

CUADRO 1. Continuación

No.	FAMILIA	HOSPEDERO			LOCALIDAD	FECHA	COLECTOR (ES)
		NOMBRE VULGAR	NOMBRE CIENTÍFICO				
30	Solanaceae	Hierba mora	84	*Solanum americanum* Miller*	UCV-FAGRO Maracay, edo. Aragua	04/03/2011	M. Brito
					Unidad Recursos Fitogenéticos CENIAP. Maracay, edo. Aragua	07/09/2010	F. Ramos
					Unidad Protección Vegetal, CENIAP Maracay, edo. Aragua	19/10/2010	E. Sandoval
			85	*Solanum pseudocapsicum* L.*	CENIAP, Maracay, edo. Aragua	13/11/1996	E. Arnal E. Debrot
		Lulo	86	*Solanum quitoense* Lam.*	El Peñon de Gavante Mpo. Tovar, edo. Aragua	29/03/2007	F. Ramos
31	Apiaceae **	Apio España	87	*Apium graveolens* L.	CENIAP, Maracay, edo. Aragua	19/11/1996	E. Arnal E. Debrot F. Ramos F. Centeno
					Baruta, Caracas, D. F.	29/10/1997	E. Debrot
					CENIAP, Maracay, edo. Aragua	08/12/1997	F. Centeno
					Baruta, Caracas, D.F.	30/09/1998	E. Debrot
32	Urticaceae **		88	*Fleurya aestuans* (L.) Gaudich.*	San Francisco de Cara, edo. Aragua	02/05/1997	E. Arnal F. Ramos
33	Verbenaceae **	Garbancillo	89	*Duranta erecta* L.	U-P-V INIA. Aragua	21/08/2013	F. Ramos
		Cariaquito	90	*Lantana* sp.	Caña de Azúcar Maracay, edo. Aragua	17/05/1995	H. Giraldo
					San Francisco de Cara, edo. Aragua	21/03/1996	E. Arnal F. Ramos
					Urb. San Isidro Maracay, edo. Aragua	09/04/2007	E. Sandoval
			91	*Priva lappulacea* (L.) Pers.*	San Francisco de Cara, edo. Aragua	08/03/1996	E. Arnal F. Ramos
34	Vitaceae **•	Uva	92	*Vitis vinifera* L. *	Altagracia, edo. Lara	Jul-99	O. Aponte

nezuela. A partir de estos resultados, se señala que 65 especies de plantas y seis familias botánicas de plantas se consideran adicionales a los resultados obtenidos por Mound & Halsey (1978) y Greathead (1986), ampliando así el conocimiento que sobre plantas hospederas de *B. tabaci* se registra mundialmente, al menos para la región Neotropical. Las familias botánicas con mayor número de registros de plantas son Asteraceae (13), Fabaceae (13) y Solanaceae (7), familias que están muy asociadas con la actividad agrícola que se realiza en el país, y especialmente donde se siembran girasol, caraota, frijol, soya, papa, tomate y pimentón.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Abd-Rabou, S. & A. Simmons. 2010. Survey of reproductive host plants of *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) in Egypt, including new host records. *Entomological news*, 121(5): 456-465.

Ahmad, S. K. & P. Q. Rizvi. 2014. Comparative biological parameters of whitefly, *Bemisia tabaci* (Genn.) on fruit bearing vegetable crop plants. *Journal of Entomology and Nematology*, 6(5): 62-70.

Arnal, E. & F. Ramos. 2000. Incorporación de registros de interés a la lista de moscas blancas (Homóptera: Aleyrodidae) de Venezuela. *Boletín de Entomología Venezolana*, 15(1): 97-107.

Arnal, E., Ramos, F. & E. Debrot. 1993b. Plantas hospederas de la mosca blanca *Bemisia tabaci* (Gennadius) en Venezuela. *Agronomía Tropical*, 43(5-6): 267-285.

Arnal, E., Rusell, L., Debrot, E., Ramos, F., Cermeli, M., Marcano, R. & A. Montagne. 1993a. Lista de moscas blancas (Homoptera: Aleyrodidae) y sus plantas hospederas en Venezuela. *Florida Entomologist*, 76(2): 365-381.

Azab, A.K., Megahed, M.M. & H.D. EI-Mirsawi. 1971. On the range of host-plants of Bemisia tabaci (Genn.). *Bulletin of Entomolgical Society Egypt*, 54: 319-326.

Bastidas, L. 2014. Comportamiento de cuatro cultivares de tomate ante el Tomato yellow leaf curl virus (TYLCV) y el Tomato Venezuela virus (ToVEV) transmitidos mediante *Bemisia tabaci*. Trabajo de grado presentado como requisito final para optar al título de Magister Scientiarum en Agronomía, Postgrado en Agronomía, FAGRO-UCV, Maracay, Edo. Aragua, Venezuela. 87 p.

Brown, J. K. 2007. The Bemisia tabaci Complex: Genetic and Phenotypic Variability Drives Begomovirus Spread and Virus Diversification. *APS*net *Features*. Disponible en: http://www.apsnet.org/publications/apsnetfeatures/Pages/BemisiatabaciComplex.aspx. doi: 10.1094/APSnetFeature-2007-0107.

CABI (Centre for Agricultural Bioscience International). 2018. *Bemisia tabaci* (tobacco whitefly). *In:* Invasive Species Compendium. Wallingford, UK: CAB International. www.cabi.org/isc. Disponible en https://www.cabi.org/isc/.

Cruz, P. L. & E. L. Baldin. 2017. Performance of *Bemisia tabaci* Biotype B on Soybean Genotypes (en linea). *Neotropical Entomology*, 46:210-215. doi: https://doi.org/10.1007/s13744-016-0445-3.

Cuéllar, M. E. & F. J. Morales. 2006. La mosca blanca *Bemisia tabaci* (Gennadius) como plaga y vectora de virus en fríjol común (*Phaseolus vulgaris* L.). Artículo de revisión. *Revista Colombiana de Entomología*, 32(1):1-9.

EPPO (European and Mediterranean plant protection organization). 2014. PQR database. Paris, France: European and Mediterranean Plant Protection Organization. Disponible en: http://www.eppo.int/DATABASES/pqr/pqr.htm

García-Valencia, Y., Mesa-Cobo, N. C., Estrada, E. I. & Y. Mena. 2013. Estudio de la resistencia a *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Hemiptera: Aleyrodidae) en germoplasma cultivado y silvestre de tomate (*Solanum lycopersicum* L.). *Acta Agronómica*, 62(4): 361-369.

Gelman, D.B., Blackburn, M.B. & J.S., Hu. 2005. Identification of the molting hormone of the sweet potato (Bemisia tabaci) and greenhouse (*Trialeurodes vaporariorum*) whitefly. *Journal of Insect Physiology*, 51: 47-53.

Greathead, A. H. 1986. Host plants. *In* M.J.W. Cock (ed.), *Bemisia tabaci:* a literature survey on the cotton whitefly with an annotated bibliography, pp. 17-25. CAB International Institute of Biological Control, Ascot, United Kingdom.

Hokche, O., Berry, P. & O. Huber. 2008. Nuevo catalogo de la flora vascular de Venezuela. *Fundación Instituto de Botánica de Venezuela "Dr. Tobías Lasser"*. Caracas. 859 p.

Jones, D. 2003. Plant viruses transmitted by whiteflies. *European Journal of Plant Pathology*, 109: 195-219.

Kumari Jha, S. & M. Kumar. 2018. Fluctuation in whitefly *Bemisia tabaci* population in relation to environmental factors. *Journal of Entomology and Zoology Studies*, 6(2): 3.011-3.014.

Li, S. J., Xue, X., Ahmed, M. Z., Ren, S. X., Du, Y. Z., Wu, J. H., Cuthberston, A. G. & B. L., Qiu. 2011. Host plants and natural enemies of *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) in China (en linea). *Insect Science*, 18: 101-120.

López, S. & G. Segade. 2017. Moscas blancas y enemigos naturales asociados al cultivo de naranja bajo dos tipos de manejo sanitario en San Pedro, provincia de Buenos Aires. *Revista de la Sociedad Entomológica Argentina*, 76(1-2): 11-21.

Lugo, M. O., Guzmán, U. R., García, E. R. & F. J. León. 2011. Geminivirus transmitidos por mosca blanca (*Bemisia tabaci*) en tomate del Valle Agrícola de Culiacán, Sinaloa. *Revista Mexicana de Fitopatología,* 29: 109-118.

Marcano, R. 1996. Situación actual de la mosca blanca *Bemisia tabaco* (Gennadius) en el estado Aragua. *Papeles de FUNDACITE-Aragua*. 11 p.

Mound, L. A. & S. H. Halsey. 1978. Whitefly of the World. John Wiley and Sons. Chichester, England. 340 p. (British Museum Nat.Hist.Publix.787).

Perring, M. 2001. The Bemisia tabaci species complex. *Crop Protection*, 20: 725-737.

Queiroz, P. R., Lima, L. H., Martins, E. S., Sujii, E. R. & R. G. Monnerat. 2017. Description of the molecular profiles of *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) in different crops and locations in Brazil. *Journal of Entomology and Nematology*, 9(5): 36-45.

Ramos, F., Montilla, R., Escalona, E. & E. Sandoval. 2015. La mosca blanca *Singhiella simples* (Singh, 1931) (Hemiptera: Aleyrodidae) en Venezuela. Entomotropica 30(12): 172-174.

Romay, G., Geraud-Pouey, F., Chirinos, D. & J. Demey. 2016. *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Hemiptera: Aleyrodidae): Historia, situación actual y su rol como vector de enfermedades virales de plantas en Venezuela. *Entomotrópica*, 31(35): 276-293.

Romay, G., Geraud-Pouey, F., Chirinos, D., Morales, F., Herrera, E., Fernández, C. & A. Martínez. 2010. Transmisión del Tomato Venezuela Virus por *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Hemiptera: Aleyrodidae), en Maracaibo, Venezuela. *Neotropical Entomology*, 39(2): 266-274.

Schnee, L., Leal, F. & C. E. Benítez. 2010. El manual de plantas comunes de Venezuela de Ludwig Schnee. Facultad de Agronomía Universidad Central de Venezuela. 765 p.

Toloy, R. S., Mituti, T., Sansini, D. M., Prado, N. K., Zocca, T. N., Spotti, J. R., Fereres, A. & J. A. Marques. 2018. Features of the relationship between Tomato severe rugose begomovirus and Bemisa tabaci MEAM1 reveal that the virus is acquired during a probe lasting only one minute. *Eur. J. Plant. Pathol.*, 151: 541-547.

Tropicos.org.Missouri Botanical Garden (en linea, sitio web). Consultado 02 May. 2018. Disponible en: http://www.tropicos.org.

Urías-López, M. A., Byerly-Murphy, K. F., Osuna-García, J. A. & A. García-Berber. 2005. Incidencia de mosquita blanca (Hemiptera: Aleyrodidae), áfidos (Hemiptera: Aphididae) y virosis en melón de Jalisco, México. *Folia Entomol. Mex.*, 44(3): 321-337.

Vejar-Cota, G., Ortega-Arenas, L. D. & V. E. Carapia-Ruiz. 2009. Primer registro de la mosca blanca de los cereales *Aleurocybotus occiduus* Russell (Hemiptera: Aleyrodidae) y su impacto potencial como plaga de gramíneas en el norte de Sinaloa. *Acta Zool. Mex. (n. s.)*, 25(1): 33-48. ISSN 0065-1737.

Zachrisson, B., Herrera-Vásquez, J. & J. Bernal. 2017. Plantas hospedantes de *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Hemiptera: Aleyrodidae), en áreas colindantes al cultivo de tomate, en la región este de Panamá. B. Nota científica. *IDESIA (Chile)*, 35(1): 119-122.

ISSN(e) 2244-8888

Pittieria
42
ENERO-DICIEMBRE 2018
págs. 86-94

Identificación de la micoflora asociada a semillas de *Enterolobium cyclocarpum* (Jacq.) Griseb. conservadas *ex situ*

Identification of the micoflora associated with seeds of *Enterolobium cyclocarpum* (Jacq.) Griseb. preserved *ex situ*

por

MARÍA EUGENIA PÁEZ-SÁNCHEZ[1]; DIEGO DIAMONT-PÉREZ[2], JOSÉ REINALDO MORENO[1] y MILAGROS ARAUJO[2]

1 Ministerio del Poder Popular para Ecosocialismo y Aguas, Centro Nacional de Conservación de Recursos Genéticos.

2 Ministerio del Poder Popular para la Agricultura y Tierras, Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas.

RECIBIDO: mayo 31 de 2018 / **ACEPTADO:** octubre 31 de 2018

RESUMEN

En Venezuela son pocas las investigaciones realizadas en relación a los microorganismos asociados a las semillas de árboles forestales, que pueden beneficiar o afectar a estas semillas. Por lo cual se planteó la evaluación de un lote de semillas de Caro (*Enterolobium cyclocarpum* (Jacq.) Griseb.), las cuales estuvieron almacenadas durante dos años en el Banco de Germoplasma del Centro Nacional de Conservación de Recursos Genéticos. Un total de 300 semillas se analizaron en el Laboratorio de Micología de la Unidad de Protección Vegetal del Instituto de Investigaciones Agrícolas del INIA-CENIAP. Las semillas fueron lavadas tres veces con agua destilada estéril (ADE), separándolas en dos lotes de 150 semillas cada uno. El primer lote se colocó en bandejas con papel absorbente estéril y el segundo lote fue sembrado en medio de cultivo de papa dextrosa agar (PDA) suplementado con sulfato de estreptomicina. Las semillas se incubaron durante ocho días a 25(±) 3 °C y expuestas a ciclos alternados de 12 h de oscuridad y 12 h de luz. A través de los microscopios estereoscópico y óptico de luz, las estructuras se compararon con la descritas en la literatura especializada, con lo cual se logró determinar la presencia de *Chaetomium globosum* sobre semillas de *Enterolobium cyclocarpum*.

PALABRAS CLAVE: *Chaetomium globosum*, banco de germoplasma, hongos, árboles.

ABSTRACT

In Venezuela there is little research done in relation to the microorganisms associated with the seeds of forest trees, microorganisms that can benefit or affect these seeds. Therefore, a sample of seeds of Caro (*Enterolobium cyclocarpum* (Jacq.) Griseb. The seeds were stored for two years in the Germplasm Bank of the National Center for the Conservation of Genetic Resources. A total of 300 seeds were analyzed in the Laboratory of Mycology of the Unit of Plant Protection of the Institute of Agricultural Research of INIA-CENIAP. The seeds were washed three times with sterile distilled water (EDW), separating them into two batches of 150 seeds each. The first batch was placed in trays with sterile absorbent paper and the second batch was seeded in culture medium of potato dextrose agar (PDA) supplemented with streptomycin sulfate. The seeds were incubated for eight days at 25(±) 3 °C and exposed to alternating cycles of 12 h of darkness and 12 h of light. Through the stereoscopic and optical light microscopes, the structures were compared with those described in the specialized literature, with which it was possible to determine the presence of *Chaetomium globosum* on *Enterolobium cyclocarpum* seeds.

KEY WORDS: *Chaetomium globosum*, bank of germplasm, fungi, trees.

INTRODUCCIÓN

Se sabe que las especies de árboles forestales son atacadas por diversos patógenos en viveros, plantaciones y también en bosques naturales. La calidad de las semillas plantadas tiene una influencia crítica sobre la capacidad de los cultivos para establecerse con pleno rendimiento y potencial. Muchas de las enfermedades en las plantas son transmitidas por las semillas ya que éstas son infestadas por hongos, bacterias y virus. Dentro de este grupo de patógenos 8.000 especies de hongos son capaces de producir un importante número de enfermedades en plantas con impacto considerable, muchos de ellos son patógenos importantes de semilla en maduración y reducen la calidad y germinación de las mismas (Grawatt 1931; Gibson 1957; Urosevic 1964; Jacobs 2009). Análisis micológicos han señalado 19 especies de hongos asociados a semillas de árboles forestales (Mehrotra 1998). Muchos de estos hongos incluyen saprófitos y patógenos débiles que disminuyen la calidad de las semillas reduciendo la germinación (Archana & Mehrotra 1982; Harper & Lynch 1981; Kirkpatrick & Bazzaz 1979). Sin embargo existen reportes que indican que algunos hongos producen sustancias que promueven la germinación y el crecimiento del embrión (Leelavathy 1969; Humphreys & Waid, 1963).

Por esta razón, es importante evaluar las condiciones fitosanitarias de las semillas y asegurar que las mismas estén libres de insectos plagas y fitopatógenos que afecten su viabilidad tanto en campo como en almacenamiento (ISTA, 1999). Una vez que los hongos están bien identificados, es esencial determinar la epidemiología del deterioro de la semilla. Estudios sobre los efectos de factores tales como: humedad relativa, temperatura y tiempo de almacenamiento permiten proporcionar información básica para mantener la calidad de la semilla (Shea, s/f.). Para obtener éxito en programas de reforestación se debe contar con semillas en óptimas condiciones físicas, fisiológicas, genéticas y fitosanitarias (ISTA 1999; Terenti 2004, ISTA 2016), ya que ésta es la unidad biológica de propagación de la especie, la cual va a asegurar la obtención de plantas sanas para su establecimiento en campo (Borrajo 2006; Doria 2010). El Centro Nacional de Conservación de Recursos Genéticos (CNCRG), adscrito al Ministerio del Poder Popular para Ecosocialismo y Aguas, tiene entre sus actividades la conservación e investigación sobre la diversidad biológica del país, así como la realización de la colecta, procesamiento y almacenamiento de semillas de especies forestales presentes en Venezuela, útiles en los distintos programas asociados a la conservación de especies botánicas de interés ecológico y económico. *E. cyclocarpum,* cuya legumbre se caracteriza por ser curva formando un circulo helicoidal completo, presenta amplia distribución en América Tropical, y en Venezuela se encuentra en las zonas cálidas del norte del país, entre los 0 y 900 m.s.n.m (Llamozas *et al.* 2003; Hokche *et al.* 2008, Schnee *et al.* 2010), La especie es empleada en reforestación de áreas con suelos degradados por ser una leguminosa que fija nitrógeno y forma micorrizas, su semilla es empleada en la alimentación animal e incluso humana (Serratos *et al.* 2008; Hernández *et al.* 2011). Esta especie está considerada vulnerable por su extracción para ser empleada en la construcción rural, elaboración de implementos agrícolas y muebles; así como por la eliminación de bosques (Llamozas *et al.* 2003). Debido a que en Venezuela no existe información precisa vinculada a un programa de evaluación fitosanitaria de semillas

de especies forestales y al escaso conocimiento sobre su incidencia en la propagación de árboles, el CNCRG y el INIA-CENIAP a través de los laboratorios de la Unidad de Protección Vegetal, se platearon el análisis micológico de semillas de *E. cyclocarpum* preservadas por un lapso dos años a una temperatura de 10 ºC.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se analizaron 300 semillas de caro-caro (*E. cyclocarpum*), almacenadas durante dos años a una temperatura de 10 ºC, en el banco de germoplasma del Centro Nacional de Conservación de Recursos Genéticos adscrito al Ministerio del Poder Popular para Ecosocialismo y Aguas. Las muestras se procesaron en el Laboratorio de Micología de la Unidad de Protección Vegetal del INIA-CENIAP. Se seleccionaron al azar dos lotes de semillas de 150 cada uno, el primero de ellos se colocó sobre papel absorbente secante estéril humedecido con agua destilada estéril (ADE), dentro de bandejas plásticas envueltas con envoplast transparente. El otro lote de semillas se lavó con abundante agua estéril, se secaron con papel absorbente estéril y se sembraron cinco semillas por cápsula de Petri, las cuales contenían medio papa dextrosa agar (PDA) suplementado con sulfato de estreptomicina para inhibir el crecimiento bacteriano. Las bandejas y cápsulas de Petri se incubaron durante ocho días a 25±3 °C y expuestas a ciclos alternados de 12 h de oscuridad y 12 h de luz. Al octavo día de incubación, las muestras se examinaron con microscopio estereoscópico Zeiss Stemi DV4 (8-32X) y se realizaron observaciones de preparados microscópicos utilizando colorantes vegetales para la tinción de las estructuras fúngicas (González *et al.* 2011). Las micro y macrofotografías se realizaron con una cámara digital marca Leica® acoplada a microscopio modelo Leica DW1000. Con la ayuda de literatura especializada se pudo determinar la especie del hongo presente sobre la testa de la semilla.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Con base en los resultados obtenidos del análisis micológico realizado, se pudo observar que en ambos métodos en más del 65 % de las semillas se observo crecimiento de estructuras fúngicas, 66 % en papel absorbente y 100 % en PDA, las cuales se describen a continuación: Ascocarpos en forma de peritecio subgloboso con ostiolo en el extremo superior, cubierto de setas terminales, ubicados sobre la testa de las semillas de caro-caro ***(FIGURA 1)***. El peritecio de 142-170 x 104-161 µm, con setas terminales en la parte superior de 3.7- 4.5 µm de ancho y tricomas rizoidales en la parte basal ***(FIGURA 2)***. En el corte longitudinal del peritecio se pudo observar ascas hialinas, clavadas y evanescentes, de 42-73 x 11-12 µm; con 8 ascosporas de color marrón en forma elipsoidal o esféricas, unicelulares de 9-10,5 x 6,0-8,9 µm ***(FIGURA 3)***. Estas características permitieron identificar al espécimen como un ascomicete, de la familia Chaetomiaceae, orden Sordariales, genero *Chaetomium,* especie *C. globosum*. Este resultado representa el primer reporte de este hongo en semillas de caro-caro. Una vez realizada la caracterización morfológica e identificación del hongo, se procedió a preparar muestras de semillas con las estructuras del hongo para enviar al Herbario Micológico "Albert S. Muller" (VIA) y se realizaron aislamientos en PDA, para su conservación en el Cepario del Laboratorio de Micología de la Unidad de Protección Vegetal del INIA-CENIAP.

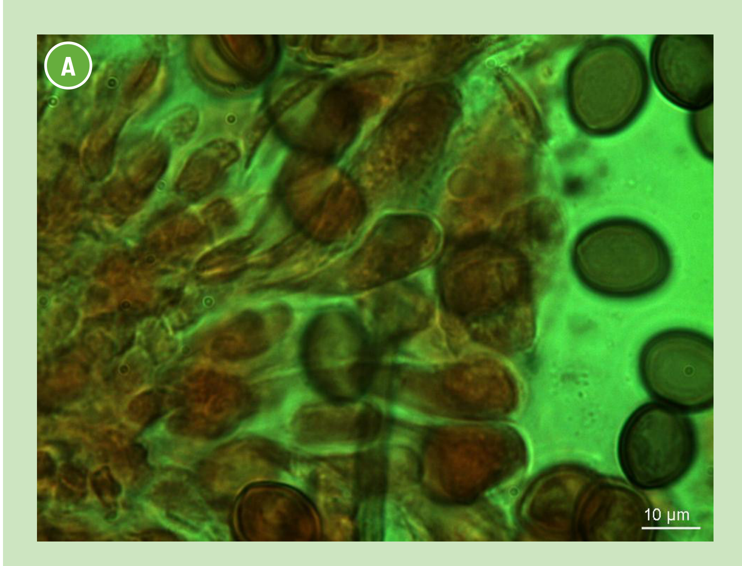




FIGURA 1. **(A)** Semilla de caro-caro mostrando peritecios subglobosos del hongo *Chaetomium globosum*, **(B)** detalle de las setas terminales de dicho peritecio.



FIGURA 2. Peritecio subgloboso del hongo *Chaetomium globosum*, mostrando setas terminales dispuestas apicalmente y tricomas rizoidales ubicados basalmente. 40x.



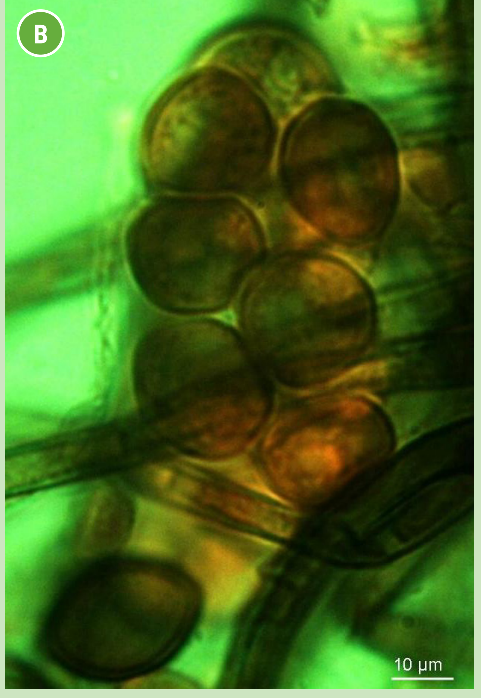
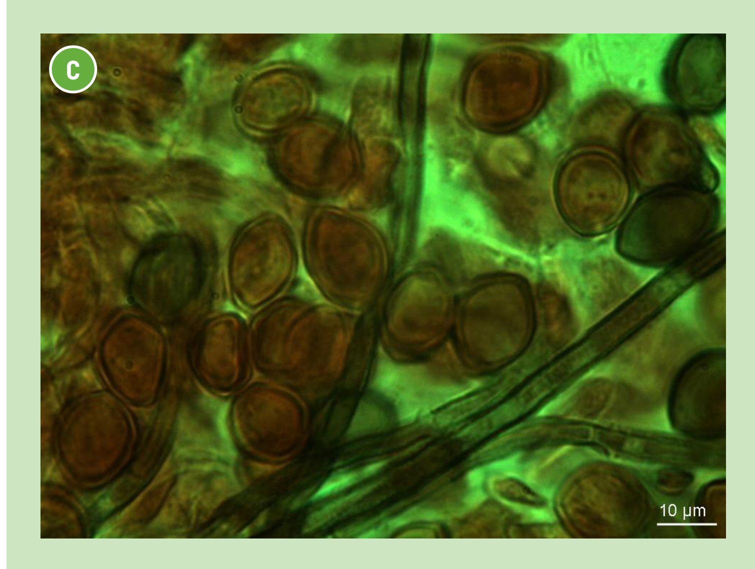


FIGURA 3. (A) Ascas hialinas y clavadas de *Chaetomium globosum*, **(B)** detalle de ascas con ascosporas en su interior y **(C)** ascosporas unicelulares y elipsoidales, 100x



C. globosum ha sido reportado con capacidad de degradar la celulosa (Hawksworth & Wells 1973, Troya *et al.* 2000); otras investigaciones señalan su capacidad patogénica, endòfita y saprofita en diferentes especies de plantas (Kubatova 2006; Wang *et al.* 2012; Kumar *et al.* 2013). Por otro lado esta especie se ha señalado en semillas de árboles forestales como eucalipto (Pérez-Vera *et al.* 2005), araguaney (Diamont *et al.* 2013) y moringa (Martínez de la parte *et al.* 2013). En todo caso quedaría por demostrar la influencia de *C. globosum* sobre la calidad de la semilla de *E. cyclocarpum* y evaluar las condiciones de almacenamiento de las mismas, ya que la mayoría de los hongos que invaden a la semilla almacenada crecen en un rango de temperatura entre 25 y 28 °C. Por lo tanto, dentro de los límites de crecimiento de los hongos, cuanto mayor sea el contenido de humedad y la temperatura, más corto es el tiempo que se puede almacenar sin efectos adversos (Chulze 2010). Es importante señalar que en este análisis no hubo crecimiento de otros hongos que comúnmente crecen sobre semillas almacenadas. Según Schmidt (2000), los hongos que pertenecen a los géneros *Penicillium* y *Aspergillus* constituyen los principales agentes que afectan a las semillas en condiciones de almacenamiento. En tal sentido, investigaciones en semillas almacenadas de *Leucaena leucocephala* reportan una lista importante de especies fúngicas tales como *Rhizopus*, *A. flavus*, *A. niger*, *Alternaria alternata*, *Alternaria tenuissima*, *Apiospora montagnei*, *Arthrinium euphorbiae*, *Aspergillus fumigatus*, *Curvularia clavata*, *Curvularia lunata*, *Fusarium* sp., *Fusarium pallidoroseum*, *Paecilomyces variotii*, *Penicillium chrysogenum* y *Phoma* sp (Soetrismo 2003). En la literatura revisada para el género *Enterolobium* no se señala información acerca de los efectos que ejerce *Chaetomium* sobre la calidad de la semilla.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Archana, S.; Mehrotra B. S. 1982. Mycoflora Associated with the Seeds of Forest Trees and Their Effect on Germination Proc. Indian man. Sci. Acad. B. 48(5): 706-713.

Borrajo, C. I. 2006. Curso Internacional en Ganadería Bovina Subtropical. Reconquista. Argentina. Recuperado de http://www.produccion-animal.com.ar/produccion_y_manejo_ pasturas/.. ./78-borrajo.pdf.

Chulze, S. N. 2010. “Strategies to reduce mycotoxin levels in maize during storage: a review”. Food Additives & Contaminants: Part A, 27(5): 651-657.

Diamont, D., Márquez. M.; Pérez, D.; Subero, L. 2013. Detección de hongos asociados a semillas de especies de árboles forestales de interés en Venezuela. XXIII Congreso Venezolano Fitopatología.Venezuela. Recuperado de https://sites.google.com /site/ideafitopatologia2013/ home/resumenes-socializados/trabajos-por-temas/forestales.

Doria, J. 2010. Generalidades sobre las semillas: su producción, conservación y almacenamiento Cultivos Tropicales. 31(1): 74-85.

Gibson I. A. S. 1957. Saprophytic fungi and destroyers of germinating pine seeds; E. African. Agric. J. 22: 203-206.

González, M.; D. Diamont.; B. Gutiérrez. 2011. Técnica de tinción de estructuras fúngicas con colorantes vegetales como una alternativa no contaminante. Biagro. 23(1): 65-68.

Grawatt, A. E. 1931. Germination losses of conifer seeds due to parasites; J. Agric. Res. 42:71-92.

Harper, S. H.; Lynch, J. M. 1981. Effects of Fungi on Barley Seed Germination Journal of General Microbiology. 122: 55-60.

Hawksworth, D.; H. Wells. 1973. Ornamentation on the terminal hairs in *Chaetomium* Kunze ex Fr. and some allied genera. Mycological Papers. 134: 1-24

Hernández, N.; Tizado, C.; Him, Y.; Díaz J.G.; Torrealba, E.; Rodríguez, Z. 2011. Evaluación de tratamientos pregerminativos para estimular la emergencia en cuatro especies forrajeras arbóreas. Rev. Fac. Agron. (LUZ). 2011, 28 Supl. 1: 536-546

Hokche, O.; P. E. Berry; O. Huber. 2008. Nuevo catalogo de la flora vascular de Venezuela. Fundación Instituto Botánico de Venezuela Dr. Tobías Lasser. Venezuela. 833 p.

Humphreys, J. D. R.; Waid, J. S. 1963. Influence of fungal isolates on germination and growth of perennial ryegrass Plant Soil. 19: 139-150.

International Seed Testing Association (ISTA). 1999. International rules for seed testing. Seed Science and Technology. 27: 302 p. Recuperado de https://www.seedtest.org/.../instructions-to-contributors-content.

International Seed Testing Association (ISTA). 2016. Recuperado de https://www.seedtest.org/en /instructions-to-contributors -_content---1--1089.html.

Jacobs, K. A. 2009. Charter 4 diseases of woody ornamental and in nurseries edit by Ronald, K. Jones and D. Michael Benson. 23 p.

Kirkpatrick, B. L.; Bazzaz, F. A. 1979. Influence of Certain Fungi on Seed Germination and Seedling Survival of Four Colonizing Annuals Journal of Applied Ecology (16)2: 515-527.

Kubatova, A. 2006. *Chaetomium* in the Czech Republic and notes to three new records. Czech Mycology. Publication of the Czech Scientific Society for Mycology. 58(3-4): 155-171.

Kumar, S.; N. Kaushik; P. Proksch. 2013. Identification of antifungal principle in the solvent extract of an endophytic fungus *Chaetomium globosum* from *Withania somnifera.* Springerplus. 2:37.

Leelavathy, K.M. 1969. Effect of rhizosphere fungi on seed germinationPlant Soil. 30: 473-476.

Llamozas, S.; R. D., Stefano.; W. Meier.; R. Riina.; F. Stauffer.; G. Aymard.; O. Huber; R. Ortiz. 2003. Libro Rojo de la Flora Venezolana. Fundación Instituto Botánico de Venezuela. Dr. Tobías Lasser. Venezuela. 558 p.

Martínez de la Parte, E.; Cantillo, P. T.; García, R. D. 2013. Micobiota asociada a lotes importados de semillas de moringa (*Moringa oleifera*). Fitosanidad 17(3):125-129.

Mehrotra, M. D. 1998. Punam Singh Indian Journal of Forestry. 21(4): 345-354.

Pérez-Vera, O. A.; M. de J. Yáñez-Morales.; D. Alvarado-Rosales.; D. Cibrián-Tovar; S. E. García-Díaz. 2005. Hongos asociados a eucalipto, *Eucalyptus grandis* Hill: Maid. Agrociencia. 39(3): 311-318.

Schnee, L; Leal, F.; Benítez, C. E. 2010. El Manual de Plantas Comunes de Venezuela de Ludwig Schnee. Ediciones de la Facultad de Agronomía Universidad Central de Venezuela. Venezuela. 765 p.

Schmidt, L. 2000. Guide to handling of tropical and subtropical forest seed. Ed. K. Olensen. Danida Forest Seed Centre. Dermark. 511 p.

Serratos, A. J. C.; Carreón A. J.; Castañeda, V. H.; Garzón de la Mora, P.; García, E. J. 2008. Composición químico-nutricional y de factores antinutricionales en semillas de parota *(Enterolobium cyclocarpum)*. Interciencia. 33(11):850-854.

Shea, K. R. s/f. Mold Fungi and Their Relation to Forest Tree Seed. Recuperado de https://npn.rngr.net/publications/proceedings/1960/mold-fungi-and-their-relationship-to-forest-tree-seed/at_download/file.

Soetrismo, H. 2003. The importance of storage conditions in the management of forest tree seed diseases and damping off in Indonesia. Recuperado de http://www.metla.fi/ iufro/iufro95abs/d2pap89.htm.

Terenti, O. 2004. Calidad de semilla, qué implica y cómo evaluarla. E.E.A. INTA San Luis, Informativo Rural 1(2). Recuperado de http:// www.produccion-animal.com.ar/produccion y manejo.../27-calidad semillas.pdf

Troya, T.; D. Muñoz-Mingarro.; F. Linares.; C. Rodrigues-Borrajo.; Yuste.; F. Rubio. 2000. Detección de actividades enzimáticas lignocelulolíticas de *Chaetomium* spp. Invest. Agr. Sist. Recur. For. 9: 5-15.

Urosevic B. 1964. More important seed borne diseases of Czechoslovak forest trees. Proc. FAO/I.U.F.R.O. Simposium of internationally dangerous forest diseases and insects, Oxford. 22: 203-206.

Wang Y.; L. Xu.; W. Ren.; D. Zhao.; Y. Zhu.; X. Wu. 2012. Bioactive metabolites from *Chaetomium globosum* L18, an endophytic fungus in the medicinal plant *Curcuma wenyujin*. Phytomedicine. 19: 364-368.

Instrucciones a los autores

1. **PITTIERIA** es la revista del Departamento de Botánica y Ciencias Básicas de la Facultad de Ciencias Forestales y Ambientales de la Universidad de Los Andes (Mérida, Venezuela) y publica artículos científicos y notas técnicas de todos los campos de la botánica; haciendo énfasis en investigaciones realizadas en Venezuela. Es una publicación editada en formato impreso y digital; en este último caso es de acceso libre a través de la dirección online **http://www.saber.ula.ve/pittieria/**
2. Los artículos y notas técnicas recibidas serán sometidos a un proceso de evaluación por parte del Comité Editorial y de dos o más árbitros seleccionados entre personal especializado en el área del cual trate el artículo o la nota técnica correspondiente. Sólo serán publicados aquellos artículos o notas que cumplan con lo exigido en las instrucciones de autor de la revista y que aprueben el proceso de evaluación realizado por los consultores de arbitraje designados.
3. El comité editorial se reserva el derecho de hacer las correcciones y modificaciones necesarias al material enviado para publicación posterior a su evaluación y las corrección por parte del autor o autores, con el fin de adecuar formatos, estilos o grafías erradas; sin embargo, PITTIERIA NO SE RESPONSABILIZA DE ERRORES NOMENCLATURALES, GRAMATICALES Y DE CONSISTENCIA ENTRE CITAS Y REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS, SIENDO TODOS ESTOS LA RESPONSABILIDAD EXCLUSIVA DEL AUTOR O AUTORES DE LOS CONTENIDOS AQUÍ PUBLICADOS.
4. Los artículos deben ser el resultado de investigaciones originales cuyos resultados constituyan aportes valiosos en el campo de la botánica.
5. Las notas técnicas incluyen notas de investigación, ensayos y/o revisiones de literatura enfocados hacia el campo de la botánica.
6. El proceso de recepción de trabajos se realiza en tres fases: **(A)** Envío del trabajo en formato digital o impreso para ser sometido a revisión por parte del Comité Editorial con el fin de constatar que el trabajo cumple con los requisitos exigidos por la revista en las instrucciones de autor. Una vez hecha la revisión, se le envía nuevamente a el(los) autor(es) con el fin de hacer las correcciones consideradas pertinentes por parte del Comité Editorial. **(B)** Envío, en formato impreso y digital, de tres ejemplares del trabajo con sus respectivas figuras y cuadros para ser sometido a proceso de arbitraje. Una vez recibidas las evaluaciones de los árbitros, los resultados de la misma serán enviadas a el(los) autor (es). **(C)** Envío, en un plazo no mayor a seis semanas después de haber sido remitido el resultado de la evaluación, de la versión definitiva del trabajo con las modificaciones sugeridas en el proceso de arbitraje. Una vez constatado que el trabajo cumple con las exigencias de la revista, se procederá a la aceptación del mismo para ser publicado en el número siguiente de la revista.
7. El texto debe ser escrito preferiblemente en formato .doc (Word), en hojas tamaño carta, con márgenes de 2,5 cm a cada lado, escritas con espaciamiento de 1,5 líneas y una extensión máxima de 40 páginas, incluyendo cuadros y figuras.
8. Los artículos deben llevar la siguiente estructura: Titulo, titulo en inglés, autor(es), dirección institucional, resumen (no mayor de 250 palabras), palabras clave (entre 5 y 10), abstract (no mayor de 250 palabras), keywords (entre 5 y 10), introducción, materiales y métodos, resultados y discusión, conclusiones, agradecmientos (opcional), referencias bibliográficas. Los títulos de cada sección se escribirán en letras negritas, sólo la primera letra en mayúsculas y alineados a la izquierda.
9. La información institucional se presentará colocando el nombre de la dependencia a la cual está adscrito el autor, institución, ciudad, país y dirección de contacto electrónica (por ejemplo: Departamento de Botánica y Ciencias Básica. Facultad de Ciencias Forestales y Ambientales. Universidad de Los Andes. Mérida, Venezuela. login@dominioinstitucional). En caso de más de un autor, cada uno será identificado con un superíndice numérico al lado derecho del apellido y la información institucional debe iniciarse colocando el valor del superíndice asignado.
10. El titulo no debe exceder de 16 palabras, se escribirá en letras mayúsculas y negritas, Times New Roman, tamaño 14 y centrado. El titulo en inglés se escribirá en letras Times New Roman 12, en negritas y con sólo la primera letra en mayúscula. Para el resto del texto se utilizará letra Times New Roman 12, excepto la información institucional la cual será escrita en Times New Roman 10. En el caso de los nombres científicos se utilizarán letras cursivas.

11. Unidades de medidas y símbolos. Se utilizará el sistema métrico decimal y el sistema internacional de unidades (SI). Los símbolos de unidades de medida no llevan punto y están separados por un espacio de los valores numéricos que le anteceden. Cuando las unidades de medida se escriben con su nombre completo se deben emplear letras minúsculas (centímetro, metro, litro...).

12. En el caso de presentarse claves dicotómicas, por razones de edición y montaje, estas deben ser de tipo paralelo o pareadas, nunca dentadas. DE NO CUMPLIRSE ESTAS CONDICIONES, SE RESERVA EL DERECHO DE ACEPTACIÓN DEL MATERIAL.

13. Cada cuadro y figura deben ser presentados en archivos individuales y deben estar correctamente identificados. En el caso de imágenes digitales, se requiere que sean enviadas en formato .jpg, .png o .tif, con una resolución mínima de 300 dpi y no menores en ninguna de sus dimensiones a 2.000 pixels/ pulgada. Adicionalmente, cualquier figura o cuadro que se presente debe estar citado en el texto. En caso de ilustraciones de origen vectorial (aplicaciones CAD o similares) se requiere sean enviadas en su formato original (por ejemplo, .dwg, .ai). DE NO CUMPLIRSE ESTAS CONDICIONES, SE RESERVA EL DERECHO DE ACEPTACIÓN DEL MATERIAL Y EN TODO CASO LA REVISTA NO SE HACE RESPONSABLE DE LA CALIDAD DE LA REPRODUCCIÓN FINAL DE LAS ILUSTRACIONES Y FOTOGRAFÍAS.

14. Las citas bibliográficas en el texto se regirán por el siguiente esquema: **(A)** Un autor: Contreras (2009) o (Contreras, 2009), dependiendo del contexto donde se encuentre ubicada. **(B)** Dos autores: Contreras & Hernández (2009) o (Contreras & Hernández, 2009), dependiendo del contexto donde se encuentre ubicada. **(C)** Más de dos autores: Contreras *et al.* (2009) o (Contreras *et al.*, 2009), dependiendo del contexto donde se encuentre ubicada. Cuando dos o más citas aparecen seguidas, deberían listarse desde la más reciente a la más antigua.

15. La presentación de las referencias bibliográficas se hará por orden alfabético y de acuerdo al siguiente esquema:

(A) Libros:

VELÁSQUEZ, J. 1994. *Plantas acuáticas vasculares de Venezuela*. Universidad Central de Venezuela. Caracas. 992 p.

(B) Capítulos de libros:

HUBER, O. 1995a. History of Botanical Explorations. In: *Flora of the Venezuelan Guayana*. Volume 1. Introduction (P. E. Berry, B. K. Holst and K. Yatskievych, eds.), pp. 63-96. Missouri Botanical Garden, St. Louis, MI, USA.

(C) Artículos de revistas:

STERN, W. 1957. Guide to institutional wood collections. *Tropical Woods* 106: 1-29.

(D) Tesis o trabajos de ascenso:

PÉREZ, A. 1969. *Estructura anatómica de 37 maderas de la Guayana Venezolana y clave para su identificación*. Universidad de Los Andes. Facultad de Ciencias Forestales. Escuela de Ingeniería Forestal. Mérida, Venezuela. 122 p. (Trabajo de ascenso).

(E) Publicaciones on line:

WILSON, H. D. 1996. *Field Systematic Botany: Pteridophytes (Ferns and Allies) An Overview*. http://www.csdl.tamu.edu/FLORA/fsb/fsbfern1.html (Jul. 03, 1996). Department of Biology Herbarium, Texas A&M University. Texas, USA.

INSTRUCTIONS TO THE AUTHORS

1. **PITTIERIA** is the journal of the Departamento de Botánica y Ciencias Básicas of the Facultad de Ciencias Forestales y Ambientales of the Universidad de Los Andes, Mérida, Venezuela; it is intended to serve as a publishing media for the institution members but open to external researchers work. The journal publishes scientific papers and technical notes regarding any botany related field, with emphasis on the research carried on Venezuela. It is annual in periodicity and published in either printed and digital formats, the last one of free access at **http://www.saber.ula.ve/pittieria/**
2. Submitted papers and notes are subject to evaluation by the Editorial Committee plus two or more specialists in the field of the works. Only those works that fulfill the journal requirements and pass the evaluation process will be published.
3. The editorial committee holds the rights to correct and modify according to necessity all the submitted material, after the review process if formatting, styles, and writing defects are found; nonetheless PITTIERIA IS NO RESPONSIBLE OF NOMENCLATURAL MISSPELLINGS, GRAMMAR AND CONSISTENCY ERRORS BETWEEN CITATIONS AND THEIR REFERENCES, THESE BEING SOLELY THE AUTHOR OR AUTHORS RESPONSIBILITY.
4. Papers must be the outcome of original research which results constitute a valuable contribution in the field of botany.
5. Technical notes are short communications, essays and/or literature reviews focused on botany.
6. Admission of works occur in three stages: **(A)** submission of work either digitally (pittieria@ula.ve) or printed (Universidad de Los Andes, Facultad de Ciencias Forestales y Ambientales, Departamento de Botánica y Ciencias Básicas, Revista Pittieria, Mérida, Venezuela, Código Postal 5101) for evaluation by the Editorial Committee to verify it accomplishes the requirements of instructions. Once evaluated, it is returned to the author o authors for them to make any corrections suggested by the Editorial Committee. **(B)** Submission of three complete copies of the work, digitally or printed, for arbitration. Once received the results of arbitration, they will be sent back to the author(s). **(C)** Submission of the final version of work with the modifications suggested during arbitration, within the next six week after the results of arbitration were sent back. Once verified the accomplishment of all the requirements of the journal, the work will be accepted for publication on the next journal issue.
7. Text must be preferably submitted in .doc format (Word), American-letter size, margins of 2,5 cm each, line spacing of 1,5, and up to 40 pages in length including figures and tables.
8. Papers must have: Title in Spanish, an English title under the Spanish title, author(s) name(s), he, she, their institutional addresses, abstract in Spanish (up to 250 words), Spanish keywords (5 to 10), English abstract (up to250 words), English keywords (5 to 10), introduction, materials and methods, results, discussion of the results, conclusions, acknowledgements (optional), and references quoted. Each section titles must be in bold-face letters, only first letter capital, left justified.
9. Institutional information must be written according to the following: name of the author's adscription dependency, institution, city, country, and electronic contact information (as an example: Department of Botany, MRC 166, National Museum of Natural History, Smithsonian Institution, Washington, D.C. 20013-7012, U.S.A. authorsname@institutionaldomain). When there is more than one author, each must be identified with a numeric super-index to the right side of the author's surname and the institutional information must start with the corresponding super-index.
10. Texts must be written in Times New Roman font. The title must not exceed 16 words, written in size 14 bold-face capital letters, centered. English title must be written in size 12 bold-face letters, only first letter capital, centered. Institutional information must be in plain letters, size 10. Remaining texts must be size 12. Scientific names must be written in italics.
11. Measurement units and symbols. The decimal metric system and the International Units System must be used. Units' names abbreviations do not end with period and have to be separated by a space from the value they identify. When the complete name of any unit is given it should be lower case (centimeter, meter, liter,…).

12. In the case of presenting dichotomic key, due to editing and layout issues, the keys must be of the linked type NOT nested. IF AUTHOR OR AUTHORS FAIL TO OBSERVE THESE CONDITIONS, THE EDITORS RESERVE THE RIGHT TO ACCEPT THE MATERIAL.

13. Each table and figure must be submitted as individual files correctly identified. In case of digital raster-type images, .jpg, .png or .tif are the preferred formats, with a resolution of 300 dpi, no less than 2.000 pixels/inch in size the smallest side. Vector illustrations (produce of CAD applications or similar) must be submitted in their original format (i.e. .dwg, .ai). Any figure or table that is submitted must be cited on the text. IF AUTHOR OR AUTHORS FAIL TO OBSERVE THESE CONDITIONS, THE EDITORS RESERVE THE RIGHT TO ACCEPT THE MATERIAL AND IN ANY CASE THE JOURNAL IS NOT RESPONSIBLE FOR THE QUALITY OF THE FINAL REPRODUCTION OF THE ILLUSTRATIONS AND PHOTOGRAPHS.

14. Citations on the text body must be according to the following: **(A)** One author: Contreras (2009) or (Contreras, 2009), depending on the context where located. **(B)** Two authors: Contreras & Hernández (2009) or (Contreras & Hernández, 2009), depending on the context where located. **(C)** More than two authors: Contreras *et al*. (2009) or (Contreras *et al*., 2009), depending on the context where located. When two or more citations appear together, these should be listed from the recentmost to the oldermost one.

15. References will be shown in alphabetical order and according to the following:

(A) Books:

VELÁSQUEZ, J. 1994. *Plantas acuáticas vasculares de Venezuela*. Universidad Central de Venezuela. Caracas. 992 p.

(B) Books chapters:

HUBER, O. 1995a. History of Botanical Explorations. In: *Flora of the Venezuelan Guayana*. Volume 1. Introduction (P. E. Berry, B. K. Holst and K. Yatskievych, eds.), pp. 63-96. Missouri Botanical Garden, St. Louis, MI, USA.

(C) Articles in magazines or journals:

STERN, W. 1957. Guide to institutional wood collections. *Tropical Woods* 106: 1-29.

(D) Thesis or similar:

PÉREZ, A. 1969. *Estructura anatómica de 37 maderas de la Guayana Venezolana y clave para su identificación*. Universidad de Los Andes. Facultad de Ciencias Forestales. Escuela de Ingeniería Forestal. Mérida, Venezuela. 122 p. (Trabajo de ascenso).

(E) On line publications:

WILSON, H. D. 1996. *Field Systematic Botany: Pteridophytes (Ferns and Allies) An Overview*. http://www.csdl.tamu.edu/FLORA/fsb/fsbfern1.html (Jul. 03, 1996). Department of Biology Herbarium, Texas A&M University. Texas, USA.

Pittieria

La Revista del Departamento de Botánica y Ciencias Básicas
Facultad de Ciencias Forestales y Ambientales. Universidad de Los Andes





ISSN[e] 2244-8888